

Multidisciplinariedade na

Aquicultura:

Legislação, sustentabilidade e tecnologias



Organizadoras:

*Anita Rademaker Valença
Poliana Ribeiro dos Santos
Luciana Guzella*



UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA

ISBN: 978-65-87206-19-6

**Multidisciplinaridade na Aquicultura:
Legislação, Sustentabilidade e
Tecnologias**

Multidisciplinaridade na Aquicultura: Legislação, sustentabilidade e tecnologias.

Anita Rademaker Valença
Poliana Ribeiro dos Santos
Luciana Guzella

Organizadoras

1ª Edição



UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA

Editora UFSC
2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Reitor

Ubaldo Cesar Balthazar

Vice-Reitora

Alacoque Lorenzini Erdmann

Conselho Editorial

*Ana Paula Lira de Souza
Bruno Da Silva Pierri
Caio Cesar Franca Magnotti
Cecília de Souza Valente
Debora Machado Fracalossi
Esmeralda Chamorro Legarda
Fabio Carneiro Sterzelecki
Katt Regina Lapa
Raoani Cruz Mendonça
Walter Quadros Seiffert*

Comitê Científico

*Ana Paula Mariane De Moraes
Bianca Maria Soares Scaranto
Bruna Roque Loureiro
Carlos Frederico Deluqui Gurgel
Carlos Peres Silva
Carolina Antonieta Lopes
Cristina Vaz Avelar De Carvalho
Gabriel Adan Araujo Leite
Gabriela Tomas Jerônimo
Giustino Tribuzi
Isabela Claudiana Pinheiro
Jamilly Sousa Rocha
Jaqueline Da Rosa Coelho
Jorgelia De Jesus Pinto Castro
Julianna Paula Do Vale Figueiredo
Luciana Guzella
Luciany Do Socorro De Oliveira Sampaio
Maria Fernanda Oliveira Da Silva
Maria Luiza Toschi Maciel
Miguel Angel Saldaña Serrano
Priscila Costa Rezende
Rafael Sales
Ramires Eloise Queiroz Rafael
Scheila Anelise Pereira
Tania Maria Lopes Dos Santos
Wanessa De Melo Costa
William Eduardo Furtado*

Copyright© 2020 by Universidade Federal de Santa Catarina

Conselho editorial: Ana Paula Lira de Souza; Bruno Da Silva Pierri; Caio Cesar Franca Magnotti; Cecília de Souza Valente; Debora Machado Fracalossi; Esmeralda Chamorro Legarda; Fabio Carneiro Sterzelecki; Katt Regina Lapa; Raoani Cruz Mendonça; Walter Quadros Seiffert.

Organizadoras da obra: Anita Rademaker Valença, Poliana Ribeiro dos Santos e Luciana Guzella.

Capa: Bysmarck Guedes Fernandes

Diagramação: Poliana Ribeiro dos Santos

Revisão: Anita Rademaker Valença

O conteúdo deste livro é de responsabilidade dos(as) autores(as) e não expressa posição técnica ou institucional das Organizadoras, Conselho editorial e da Universidade Federal de Santa Catarina. Da mesma forma, o conteúdo de cada capítulo é de inteira e exclusiva responsabilidade de seus(as) respectivos(as) autores(as). Assim como, o padrão ortográfico, o sistema de citações e referências bibliográficas são prerrogativas de cada autor(a).

Os trabalhos que compõe esta obra foram submetidos à dupla avaliação cega (double-blind review) por pareceristas ad hoc, pós-graduados.

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária da Universidade Federal de Santa Catarina

M961

Multidisciplinaridade na aquicultura: legislação, sustentabilidade e tecnologias / organizadoras da obra Anita Rademaker Valença; Poliana Ribeiro dos Santos; Luciana Guzella – Florianópolis: UFSC, 2020.

250 p. : il.

E-book (PDF)

Disponível em: <https://semaqui.ufsc.br/>

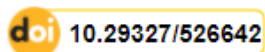
ISBN 978-65-87206-19-6

DOI: <https://doi.org/10.29327/526642>

1. Aquicultura – Brasil. 2. Aquicultura – Experiências. 3. Legislação - Aquicultura. I. Valença, Anita Rademaker, org. II. Santos, Poliana Ribeiro dos, org. III. Guzella, Luciana, org. IV. Título.

CDU: 639.3

Elaborada pelo bibliotecário Fabrício Silva Assumpção – CRB-14/1673



Este livro está sob a licença Creative Commons, que segue o princípio do acesso público à informação. O livro pode ser compartilhado desde que atribuídos os devidos créditos de autoria. Não é permitida nenhuma forma de alteração ou a sua utilização para fins comerciais. br.creativecommons.org

Conselho Editorial

Ana Paula Lira de Souza
Universidade Federal de Santa Catarina

Bruno Da Silva Pierri
Universidade Federal de Santa Catarina

Caio Cesar Franca Magnotti
Universidade Federal de Santa Catarina

Cecília de Souza Valente
National University of Ireland Galway

Debora Machado Fracalossi
Universidade Federal de Santa Catarina

Esmeralda Chamorro Legarda
Universidade Federal de Santa Catarina

Fabio Carneiro Sterzelecki
Universidade Federal Rural da Amazônia

Katt Regina Lapa
Universidade Federal de Santa Catarina

Raoani Cruz Mendonça
Instituto Federal do Pará

Walter Quadros Seiffert
Universidade Federal de Santa Catarina

PARECERISTAS DA OBRA

Os trabalhos que compõe a presente obra foram submetidos à dupla avaliação cega
(*double-blind review*) por pareceristas *ad hoc*, pós-graduados:

Ana Paula Mariane de Morais
Universidade Federal de Santa Catarina

Julianna Paula do Vale Figueiredo
Universidade Federal de Santa Catarina

Bianca Maria Soares Scaranto
Universidade Federal de Santa Catarina

Luciana Guzella
Universidade Federal de Santa Catarina

Bruna Roque Loureiro
Universidade Federal de Santa Catarina

Luciany do Socorro de Oliveira Sampaio
Universidade Federal de Santa Catarina

Carlos Frederico Deluqui Gurgel
Universidade Federal de Santa Catarina

Maria Fernanda Oliveira Da Silva
Universidade Federal de Santa Catarina

Carlos Peres Silva
Universidade Federal de Santa Catarina

Maria Luiza Toschi Maciel
Universidade Federal de Santa Catarina

Carolina Antonieta Lopes
Universidade Federal de Santa Catarina

Miguel Angel Saldaña Serrano
Universidade Federal de Santa Catarina

Cristina Vaz Avelar de Carvalho
Universidade Federal de Santa Catarina

Priscila Costa Rezende
Universidade Federal de Santa Catarina

Gabriel Adan Araujo Leite
Universidade Federal de Santa Catarina

Rafael Sales
Universidade Federal de Santa Catarina

Gabriela Tomas Jerônimo
Universidade Federal do Amazonas

Ramires Eloise Queiroz Rafael
Universidade Federal de Santa Catarina

Giustino Tribuzi
Universidade Federal de Santa Catarina

Scheila Anelise Pereira
Universidade Federal de Santa Catarina

Isabela Claudiana Pinheiro
Universidade Federal de Santa Catarina

Tania Maria Lopes Dos Santos
Universidade Federal de Santa Catarina

Jamilly Sousa Rocha
Universidade Federal de Santa Catarina

Wanessa de Melo Costa
Fundação Instituto de Pesca do Estado do
Rio de Janeiro

Jaqueline da Rosa Coelho
Universidade Federal de Santa Catarina

William Eduardo Furtado
City University of Hong Kong

Jorgelia De Jesus Pinto Castro
Universidade Federal de Santa Catarina

Sumário

PREFÁCIO.....	10
SOBRE AS ORGANIZADORAS DA OBRA	11
SOBRE OS(AS) AUTORES(AS) DA OBRA	12
ÍNDICE REMISSIVO	24

Capítulo 1

OSTRAS NATIVAS E EXÓTICAS EM ÁREAS PROTEGIDAS DO LITORAL SUL DE SÃO PAULO E IMPLICAÇÕES AMBIENTAIS E SOCIOECONÔMICAS	27
<i>Marília Cunha Lignon; Fernanda Bellinfante de Avellar</i>	

Capítulo 2

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA A ANÁLISE DA INTEGRIDADE DE MEMBRANA DE ESPERMATOZOIDES DE CURIMBA (<i>Prochilodus lineatus</i>)	46
<i>Bárbara do Carmo Rodrigues Virote; Naiara Cristina Motta; Luis David Solis Murgas</i>	

Capítulo 3

CRESCIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE SEMENTES DE VIEIRAS <i>Nodipecten nodosus</i> (LINNAEUS, 1758), NO ESPÍRITO SANTO, BRASIL.....	60
<i>Breno Ribeiro da Silva; Sérgio de Almeida Piconi; Lucas Areias Bassul; Douglas da Cruz Mattos; Leonardo Demier Cardoso; André Batista de Souza; Marcelo Fanttini Polese; Lucas Eduardo Comassetto; Thiago Bernardo de Souza; Adriano Teixeira de Oliveira; Paulo Henrique Rocha Aride; Henrique David Lavander</i>	

Capítulo 4

DESENVOLVIMENTO DO MEXILHÃO <i>Mytilus galloprovincialis</i> (Lamarck, 1819) CULTIVADO NA ENSEADA DE ZIMBROS (BOMBINHAS - SC)	76
<i>Leonardo João da Silva; Gilberto Caetano Manzoni; Leandro João da Silva</i>	

Capítulo 5

EFEITOS DO NÍVEL DE INCLUSÃO E GRAU DE HIDRÓLISE DE HIDROLISADO PROTEICO DE PEIXE EM DIETAS PARA PÓS-LARVAS DE TILÁPIA-DO-NILO.....	100
<i>Herivelto Beck de Souza; Janaina Fernanda Rossetto; Débora Tatyane Oliveira Xavier; Grace Kelly Goudinho Pires; Altevir Signor</i>	

Capítulo 6

AVALIAÇÃO DE NOVA ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL DE INGREDIENTES PROTEICOS PARA DIETAS DE PEIXES	118
<i>Karollina Lopes de Siqueira Soares; Ramires Eloise Queiroz Rafael; Maria Angélica da Silva; Isabela Janne de Lima; Janilson Felix da Silva; Thiago Barbosa Cahú; Juliana Ferreira dos Santos; Ranilson de Souza Bezerra</i>	

Capítulo 7

PARASITISMO EM PEIXES: HELMINTOS PARASITOS E OS RISCOS POTENCIAIS133

Gabriel Domingos Carvalho; Paula Zambe Azevedo; Rosali Barboza Cavaline; Mylena Amorim de Souza

Capítulo 8

ASPECTOS IMPORTANTES SOBRE OS CRUSTÁCEOS ECTOPARASITOS DE PEIXES. 150

Gabriel Domingos Carvalho; Paula Zambe Azevedo; Rosali Barboza Cavaline; Mylena Amorim de Souza

Capítulo 9

INCIDÊNCIA DE *Salmonella sp.* E *Staphylococcus aureus* EM FILÉS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) E CATFISH (*Ictalurus punctatus*) ABATIDOS E PROCESSADOS EM AMBIENTES COM DIFERENTES CONTROLES DE QUALIDADE SANITÁRIA164

Layon Carvalho de Assis; Paola de Oliveira Santos; Samuel Oliveira da Silva; Thayná de Souza Pardo; João Victor Nascimento Tardim; Marcus Vinicius Martins Gonzaga; Pedro Pierro Mendonça

Capítulo 10

TOLERÂNCIA AGUDA A SALINIDADE DA ÁGUA NA RÃ-TOURO (*Lithobates catesbeianus*) EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO179

Rafael Lucas de Oliveira Silva; Fernando Mazzioli Braga; Oswaldo Pinto Ribeiro Filho

Capítulo 11

ATIVIDADE BIOLÓGICA DE MALEIMIDAS CONTRA *Aeromonas spp.* ISOLADAS DE TAMBAQUI E CITOTOXICIDADE *IN SILICO*.....196

Claire Juliana Francisco; Sílvia Umeda Gallani; Agnes Cecheto Trindade; Edson Conrado Luz; Renata Coelho Cavalcanti; Gustavo Moraes Ramos Valladão; Guilherme Campos Tavares; Adjaci Fernandes Uchoa

Capítulo 12

OCORRÊNCIA DE FICOTOXINAS EM MOLUSCOS BIVALVES NA ÁREA LITORÂNEA DE SAMBAQUI, FLORIANÓPOLIS-SC AO LONGO DOS ANOS 2018-2020215

Michelly P. T. Vieira; Miguel F. Schopf; Vitória F. Bohn; Rodrigo Ghisi Tobaldini; Silvani Verruck

Capítulo 13

O DIREITO AO MEIO AMBIENTE DE TRABALHO EQUILIBRADO NA MARICULTURA...233

Poliana Ribeiro dos Santos

PREFÁCIO

Atualmente o Brasil é um país que apresenta enorme potencial para desenvolvimento e investimento em tecnologias voltadas a aquicultura, especialmente em virtude das condições climáticas e ambientais favoráveis aos cultivos, como também, por conta dos recursos hídricos abundantes. Nesse viés, o objetivo da presente obra é contextualizar a situação atual de pesquisa e produção voltada a aquicultura brasileira, a fim de produzir um material de consulta, estudo e aprofundamento sobre o tema.

Esta é uma publicação resultante do trabalho interdisciplinar desenvolvido em conjunto com 61 pesquisadores(as), entre autores(as) e coautores(as), vinculados(as) à Universidades, Institutos e empresas por todo o Brasil. Os(as) autores(as) principais possuem pós-graduação ou efetiva prática na área de pesquisa ou segmento de aquicultura, com formação em diversas áreas do conhecimento: Aquicultura, Agronomia, Biologia, Direito, Meio Ambiente, Recursos Pesqueiros e Zootecnia. Sendo de inteira responsabilidade dos(as) autores(as) a produção do conteúdo de cada capítulo da presente obra.

A obra foi organizada pela Doutora Anita Rademaker Valença, bióloga e professora da Universidade Federal de Santa Catarina, pela Advogada Esp. Poliana Ribeiro dos Santos e pela Mestre Luciana Guzella. Todos os capítulos da referida obra foram submetidos à dupla avaliação cega (*Double-blind review*) e analisados por pareceristas *ad hoc*. A equipe de pareceristas foi composta por pesquisadores experientes de áreas científicas multidisciplinares da ciência, pós-graduados e por professores universitários, igualmente qualificados, conforme relação de pareceristas e Conselho Editorial.

O livro é destinado a todos(as) que fazem parte da cadeia produtiva aquícola, como também a pesquisadores e estudantes, pois apresenta de modo didático pesquisas práticas, experiências de cultivos e pesquisas bibliográficas que poderão auxiliar no esclarecimento e aprofundamento do conhecimento específico da área de aquicultura. Parabéns aos(as) autores(as) e coautores(as) pelo excelente trabalho!

Boa leitura.

Poliana Ribeiro dos Santos

SOBRE AS ORGANIZADORAS DA OBRA

Anita Rademaker Valença

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Viçosa (1998), Mestre em Biologia Animal pela Universidade Federal de Pernambuco (2001) e Doutora em Oceanografia pela Universidade Federal de Pernambuco (2006). Desde 2009 é professora da Universidade Federal de Santa Catarina, lotada no Departamento de Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias. Exerceu os cargos de Coordenação de estágios, Sub-coordenação de curso e Coordenação do curso de Engenharia de Aquicultura. Atualmente é Coordenadora de Estágios e TCC do curso de Engenharia de Aquicultura. Possui experiência em coordenação e apoio de projetos de extensão, tais como: Cursos de extensão; AQL na rua; SEMAQUI; Mostra de pesquisa científica; novembro lilás: CCA/UFSC pelo enfrentamento da violência contra a mulher; e, Curso livre: ensinando a produção de peixes ornamentais de acordo com as normas. Atualmente é coordenadora do NCED/UFSC – Núcleo de Cidadania e Ensino Digital. Contato: anita.valenca@ufsc.br

Poliana Ribeiro dos Santos

Mestre pelo Programa de Pós-Graduação Profissional em Direito da Universidade Federal de Santa Catarina (PPGPD/UFSC), na área de concentração: Direito e acesso à justiça, linha de pesquisa: Acesso à justiça e formas alternativas de resolução de conflitos: a administração da justiça sob o enfoque do diálogo. Pós-graduada em Direito Penal e Processual Penal, com capacitação para o Ensino no Magistério Superior, pela Faculdade de Direito Professor Damásio de Jesus (2015). Bacharel em Direito, pela Universidade do Sul de Santa Catarina - UNISUL (2011). Graduanda de Engenharia de Aquicultura, pela Universidade Federal de Santa Catarina. Atua como Advogada desde janeiro de 2013 e como professora desde 2017. Pesquisadora integrante do Núcleo de Estudos em Direito e Feminismos (CNPQ/UFSC). Atualmente é co-coordenadora do NCED/UFSC – Núcleo de Cidadania e Ensino Digital. Atua, principalmente, na área de direitos humanos, direitos das mulheres, mediação extrajudicial de conflitos, educação e novas tecnologias educacionais, aquicultura e direito do trabalho. Contato: polianaaribeiro@gmail.com

Luciana Guzella

Engenheira Ambiental, Mestre em Aquicultura. Pesquisadora do Laboratório de Moluscos Marinhos/UFSC e Laboratório de Ecofisiologia Aplicada (Sisal/UNAM) nas áreas de: 1) reprodução e desenvolvimento embrionário do polvo *Octopus americanus* (Brasil) afim de viabilizar seu cultivo; 2) fisiologia térmica de ectotermos aquáticos: mecanismos fisiológicos e limites térmicos com as espécies *Octopus maya* e *O. americanus*. Docente voluntária no Departamento de Aquicultura/UFSC, ministra aulas no campo da ecofisiologia térmica e fisiologia de polvos. Professora de Educação Ambiental do Núcleo de Cidadania e Ensino Digital/UFSC. Consultora Ambiental em processos de Licenciamento Ambiental, Estudos Ambientais, Avaliação de Impacto Ambiental, Programas de Proteção Ambiental e Ações Mitigatórias, Projetos de Recuperação de Áreas Degradadas. Contato: lu_lg@hotmail.com

SOBRE OS(AS) AUTORES(AS) DA OBRA

Adjaci Fernandes Uchoa - Bacharel em Química pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU em 1997). Mestre em Ciências, área de concentração Química Orgânica, pela Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM em 2002), Doutor em Química Orgânica pelo Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP em 2007). Desde maio de 2008 desenvolve Estágio Pós-Doutoral na USP, Campus de Ribeirão Preto-SP, com bolsa da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Estágio de pós-doutoramento (2010) na University of Aarhus-Dinamarca. Têm experiência nas áreas Ensino de Química, Isolamento e Caracterização de Metabólitos Secundário, Alelopatia, Síntese Orgânica, Fotoquímica, Fotofísica e Bioquímica de Processos Foto-induzidos. É professor-pesquisador da Universidade Anhembi Morumbi - UAM. Atua como associado da CITÉ em P&D&I. Orientador de mestrado e doutorado em Engenharia Biomédica e Bioengenharia. Membro do conselho de ética em pesquisa com seres humanos, presta consultoria na caracteriza, pureza e determinação estrutural de moléculas orgânicas e princípio ativo de fármacos. Participa de vários projetos de pesquisa aprovados com recursos financeiros pelos órgãos de fomento CNPq e FAPESP.

Adriano Teixeira de Oliveira - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Santa Úrsula (1995), mestrado e doutorado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (1998/2003). Atualmente é Professor Permanente do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia (IFAM - Campus Manaus Centro), Professor Permanente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas (CIPET / UFAM), Professor do ProfEPT (IFES Nacional) e Pesquisador colaborador do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (LEEM / INPA). Atuando principalmente nos seguintes temas: Piscicultura, Limnologia, Fisiologia animal aplicada e Ecologia. <http://lattes.cnpq.br/9087696929404160>. Aride@ifam.edu.br.

Agnes Cecheto Trindade - Possui graduação em Química pela Universidade do Vale do Paraíba (2018). Iniciação científica na Universidade do Vale do Paraíba. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Síntese Orgânica. Mestrado em Engenharia Biomédica pela Universidade Anhembi Morumbi. <http://lattes.cnpq.br/8546885089800450>

Altevir Signor - Engenheiro de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE (2000 - 2004). Mestre em Aquicultura pelo Programa de Pós-Graduação em Aquicultura de Organismos Aquáticos de Águas Continentais do Centro de Aquicultura da Unesp - CAUNESP - Campus de Jaboticabal/SP (2005 – 2007). Doutor em Zootecnia pelo Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Campus de Botucatu, área de concentração Nutrição e Produção Animal (2007 – 2009). Pós-Doutorado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pelo Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste Financiado pelo Programa Nacional de Pós-Doutorado - PNPD CAPES (2009 - 2010). Professor Adjunto da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, Orientador e Docente dos Programas de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca - PREP e do Programa de Pós-

graduação em Desenvolvimento Rural Sustentável - PPGDRS da Unioeste e Pesquisador do Instituto Água Viva e do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura - GEMAQ. Área de experiência: Aquicultura, Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, Tecnologia do Pescado e Inovações Socio-Tecnológicas e Ação Extensionista. Atuando nas seguintes áreas: Tecnologia e Industrialização do Pescado, Nutrição Fisiologia e Saúde, Reprodução e Desenvolvimento de organismos aquáticos, Avaliação de alimentos para organismos aquáticos, Qualidade de Água, Manejo Alimentar, Aquicultura Sustentável e Difusão de Tecnologias.

André Batista de Souza - Engenheiro de Pesca, Mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura pela Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE e Doutor em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF. Atualmente é professor do Instituto Federal do Espírito Santo - IFES/Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/9587285751429073>. Andre.souza@ifes.edu.br.

Bárbara do Carmo Rodrigues Virote - Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Lavras - MG (2016) e mestra em Ciências Veterinárias na área de Fisiologia e Metabolismo Animal (2019) pela mesma instituição. Atualmente doutoranda no programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, integrante/pesquisadora do Biotério Central e do Núcleo de Estudos em Fisiologia de Peixes de Água Doce (Nepad) da Universidade Federal de Lavras - MG. Possui grande interesse na área de fisiologia e embriologia, com experimentação animal voltado para humanos. <http://lattes.cnpq.br/8466553707499960> - barbara-crv@hotmail.com

Breno Ribeiro da Silva - Estudante de Engenharia de Pesca no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (IFES) - Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/1872939533176691>. Breno_ribeiro4@hotmail.com.

Claire Juliana Francisco - Licenciatura em Engenharia de Aquicultura UFSC (2005), Mestrado em Aquicultura, CAUNESP (2006). Doutorado em Biologia, FCUP-Portugal (2010). Tem experiência em: Biologia molecular, produção. Atualmente é Sócia da empresa SMBr Technology LTDA, empresa voltada para melhoramento do desempenho zootecnico e tecnologia para produção. <http://lattes.cnpq.br/8864707866294630>.

Débora Tatyane Oliveira Xavier - Possui graduação Tecnologia em Aquicultura pelo Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA) Campus Castanhal; PÓS-graduação (especialização) em Gestão, Consultoria, Auditoria, Perícia e Fiscalização Ambiental (ESTACIO/IESAM-PA), Belém-PA; mestre em Aquicultura e Recursos aquáticos Tropicais- UFRA, Belém-PA, doutoranda no Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca-PREP/ Toledo-PR. Atou em uma chamada pública do governo federal (Ministério de desenvolvimento agrário), prestando assistência técnica para 600 famílias de pescadores artesanais da região do Salgado paraense (COODERSUS). Instrutora do Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR) núcleo Guajarina, desde maio 2016. Fez parte do Programa de Extensão Universitária PROEXT/MEC/SESu do Instituto Federal do Pará- (IFPA) Campus Castanhal (2012). Experiência voltada para Nutrição de peixe, extensão Rural, Produção de organismos aquáticos, Vigilância sanitária na venda do pescado, recursos Pesqueiros, empreendedorismo.

Douglas da Cruz Mattos - Doutor em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). <http://lattes.cnpq.br/0840854277486506>. Douglas.uenf@yahoo.com.br

Edson Conrado Luz - Possui graduação em Bacharel em Ciências-Habilitação em Química pela Faculdade de São Bernardo do Campo(1996). Tem experiência na área de Farmácia. Técnico de Laboratório Químico na Universidade Anhembi Morumbi, UAM (1998 – 2019).

Fernanda Bellinfante de Avellar - Graduanda em Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Registro. <http://lattes.cnpq.br/1172469629065402>. fernanda.avellar@unesp.br

Fernando Mazzioli Braga - Graduando em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa. Atualmente trabalha com nutrição e reprodução da rã-touro no Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV). E-mail: fernandobragamazzioli@gmail.com. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4971141911286491>

Gabriel Domingos Carvalho - Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (Ifes - Campus Piúma). Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes). Mestrado e Doutorado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Especialista em Práticas Pedagógicas para Professores (Cefor/Ifes). Possui Aperfeiçoamento em Formação Docente para Educação a Distância (Cefor/Ifes) e Aperfeiçoamento em Inclusão e Educação Especial (Cefor/Ifes). Atuou como professor no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais - IFNMG (2010-2017), exercendo os cargos de Diretor de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação do IFNMG - Campus Salinas (2012-2014) e Diretor do Departamento de Ensino Superior da Pró-Reitoria de Ensino do IFNMG (2014-2016). Atua no Ifes Campus Piúma como docente e Coordenador do curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Controle de Qualidade e Segurança de Alimentos e como docente nos cursos de Graduação em Engenharia de Pesca e Técnico em Aquicultura. Atua nas áreas de Patologia Animal, Parasitologia Animal, Medicina da Conservação e Educação Inclusiva. CV: <http://lattes.cnpq.br/3227868849279669>. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1987-4202>. E-mail: gabriel.carvalho@ifes.edu.br

Gilberto Caetano Manzoni - Doutor em Aquicultura pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Coordenador do Centro Experimental de Maricultura. Professor de Maricultura e Aquicultura geral do Curso de Oceanografia da Universidade do Vale do Itajai. Link do Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1578212353079715>. Email: manzoni@univali.br

Grace Kelly Goudinho Pires - Possui graduação em Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (2019) e curso-tecnico-profissionalizante em curso de formação docente educação infantil e séries iniciais pelo Colégio Estadual Chateaubriandense - Ensino Médio, Normal e Profissional (2012). Tem experiência na área de Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Guilherme Campos Tavares - Graduado em Medicina Veterinária (Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais / 2010), especialista em Higiene e Tecnologia de Produtos de Origem Animal (Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais / 2012), mestre em Ciência Animal (Universidade Federal de Minas Gerais / 2014) e doutor em Ciência Animal (Universidade Federal de Minas Gerais / 2018). Atuou como Professor Assistente I do curso de Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (2018) e Professor Adjunto I do curso de pós-graduação em Aquicultura (Universidade Nilton Lins / INPA). Tem experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em sanidade de organismos aquáticos e tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, especialmente pescado, bem como tecnologias de genômica, transcriptômica e proteômica para o estudo de bactérias patogênicas. Participou da execução de projetos de pesquisas financiados pelo CNPq e CAPES. Ministrou palestras de capacitação para acadêmicos, produtores e órgãos estaduais sobre sanidade na piscicultura. É atualmente Professor Adjunto da Universidade Federal de Minas Gerais. Publicou artigos científicos e técnicos relacionados com doenças infecciosas em organismos aquáticos, especialmente doenças bacterianas que afetam a produção de tilápia e surubim no Brasil. Participa do grupo de pesquisa: AquaNilton

Gustavo Moraes Ramos Valladão - Médico Veterinário (2011) pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), Mestre (2014) e Doutor (2018) em Aquicultura pelo Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP). Atualmente é Professor Adjunto I da Universidade Nilton Lins (Manaus), Docente Permanente no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura (UNL/INPA) e responsável pelo Laboratório de Parasitologia e Patologia de Organismos Aquáticos, onde coordena projetos de pesquisas em Sanidade Aplicada à Aquicultura e orienta alunos da graduação e pós-graduação. Atua como Editor Associado no periódico Boletim do Instituto de Pesca e colabora como revisor em periódicos internacionais

Henrique David Lavander - Doutor em Recursos Pesqueiros e Aquicultura pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Professor do IFES - Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/5456683616099165>. Henrique.lavander@ifes.edu.br

Herivelto Beck de Souza - Possui graduação em Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Toledo (2018). Mestrado acadêmico pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - campus de Toledo (2018 - 2020). Doutorado em andamento em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca (Chamada Pública Nº 01/2019 - Apoio a formação de doutores em Áreas Estratégicas) sob a orientação do professor doutor Altevir Signor; Membro do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMaQ - UNIOESTE) atuando principalmente nos seguintes temas: aquicultura, manejo, digestibilidade, desempenho produtivo em espécies exóticas, exigência nutricional e avaliação de alimentos alternativos em dietas para peixes.

Isabela Janne de Lima - Bacharela em Ciências Biológicas, formada pela Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada (2013). Tem mestrado em Biologia de Fungos pela UFPE (2016); Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2304114112670734> ijlbio@hotmail.com

Janaina Fernanda Rossetto - Cursando Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), campus de Toledo Paraná. Atuou como estagiária na área de Ictiologia do Grupo de Pesquisa em Recursos Pesqueiros e Limnologia (GERPEL). Atualmente esta vinculada como estagiária bolsista ao Grupo de Estudos e Manejo na Aquicultura (GEMAQ), atuando nas áreas de aquicultura, recursos pesqueiros e tecnologia do pescado.

Janilson Felix da Silva - Possui graduação em Ciências Biológicas Bacharelado pela Universidade de Pernambuco (2007), mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2009) e doutorado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (2013). Atualmente Bolsista Pesquisador do Programa Nacional de Pós Doutorado da CAPES (PNPD) na Universidade Federal da Bahia, Campus Ondina, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Laboratório de Sanidade e Nutrição de Organismos Aquáticos, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7539978708722028> janilson.felix@gmail.com

João Victor Nascimento Tardim - Graduando em Engenharia de aquicultura pelo Instituto Federal do Espírito Santo. Técnico em Meio Ambiente formado pelo Instituto Federal Fluminense - Campus Bom Jesus do Itabapoana. Aluno do Curso de Engenharia de Aquicultura do Instituto Federal do Espírito Santo e estagiário do Laboratório de Nutrição e Produção de Espécies Ornamentais (LNPEO) do Setor de Aquicultura do IFES - Campus de Alegre. <http://lattes.cnpq.br/3957061263756363>, jjntardim@gmail.com

Juliana Ferreira dos Santos - Possui graduação em Engenharia de Pesca (2000) e Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura (2008) pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e Doutorado em Ciências Biológicas (2013) pela Universidade Federal de Pernambuco, área de Biotecnologia. Exerce a função de Coordenação de Fomento e Apoio à Inovação e à Propriedade Intelectual do Núcleo de Empreendedorismo e Inovação do Instituto de Inovação, Pesquisa, Empreendedorismo, Internacionalização e Relações Institucionais – Instituto IPÊ. Faz parte da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA- UFRPE. Atuou coordenando o Curso de Engenharia de Pesca da UFRPE/UAST e também foi eventual substituta da coordenação do curso de Engenharia de Pesca da UFRPE-sede. Ministra as disciplinas Piscicultura Marinha, Carcinicultura e Fisiologia de Animais Aquáticos do Departamento de Pesca e Aquicultura da UFRPE. Também apresenta experiência didática em outras disciplinas da área de Aquicultura e Bioquímica na Unidade Acadêmica de Serra Talhada - UFRPE. Além da disciplina Enzimologia Aplicada à Biologia Aquática, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da UFPE. Apresenta experiência nas áreas de Piscicultura tendo atuado com fisiologia de espécies de peixes nativas e exóticas relevantes para piscicultura nacional e internacional, Tilapicultura, Proposição de novos modelos de crescimento em Piscicultura, Nutrição de Organismos Aquáticos, com ênfase em Ingredientes alternativos e funcionais na alimentação de peixes, Enzimas de animais aquáticos como biomarcadores da qualidade ambiental. Além de experiência em empresa privada com produção de pós-larvas de camarão marinho. Atua/atuou em projetos aprovados sobre os temas em órgãos de fomento como: FINEP, CNPq, FACEPE,

MPA e PETROBRAS.Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6621907859216486>
juli.ferreira.santos@gmail.com

Karollina Lopes de Siqueira Soares - Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco. Graduada em Ciências Biológicas - Bacharelado e mestre pelo mesmo programa de pós-graduação. Pesquisa na área de bioquímica, nutrição animal, proteômica, biologia molecular e aquicultura. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9812753522017598> karollina.lopes@gmail.com

Layon Carvalho de Assis - Graduando em Engenharia de aquicultura; Instituto Federal do Espírito Santo. Aluno do Curso de Engenharia de Aquicultura do Instituto Federal do Espírito Santo; estagiário do Laboratório de Nutrição e Produção de Espécies Ornamentais (LNPEO) do Setor de Aquicultura do IFES - Campus de Alegre. <http://lattes.cnpq.br/3957061263756363>, layoncdeassis@gmail.com

Leandro João Da Silva - Graduado em Oceanografia pela Universidade do Vale do Itajaí. Link do Lattes <http://lattes.cnpq.b/3906771312906590> Email: leandro.zbs@gmail.com

Leonardo Demier Cardoso - Doutor em Ciência Animal pela UENF. Professor do IFES – Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/6479193676524494>. leonardo.cardoso@ifes.edu.br

Leonardo João Da Silva - Graduado em Oceanografia pela Universidade do Vale do Itajaí. Email: leozbs@live.com

Lucas Areias Bassul - Estudante de Engenharia de Pesca no IFES – Campus Piúma. Servidor Técnico em Aquicultura do IFES – Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/5123799795526882>. Lucas.bassul@ifes.edu.br.

Lucas Eduardo Comassetto - Mestre em Recursos Pesqueiros pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Roraima (IFRR) - Campus Amajari. <http://lattes.cnpq.br/8940271441311108>. Lucas.comassetto@ifrr.edu.br.

Luis David Solis Murgas - Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa (1990), mestrado em Fisiologia da Reprodução Animal no Departamento de Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1993) e doutorado em Produção Animal, Interação Nutrição e Reprodução no Departamento de Zootecnia pela Universidade Federal de Lavras (1999). Estágio Pós-doutoral em Fisiologia Animal-Reprodução pela Universidad de Murcia-Espanha. Atualmente é professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária e Coordenador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Lavras-UFLA. Tem experiência na área de Nutrição e Reprodução Animal, orientador de alunos de mestrado e doutorado nos programas de pós-graduação em Ciências Veterinárias, Plantas medicinais, aromáticas e Condimentares e Zootecnia da UFLA, atuando principalmente nos seguintes temas: Técnicas de indução hormonal da reprodução de peixes de água doce, preservação de sêmen de mamíferos e de peixes utilizando resfriamento e congelamento, fisiologia da reprodução de peixes e

mamíferos e uso do Zebrafish como modelo animal em pesquisa. Atuou como Coordenador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias na UFLA 2008 a 2010. Foi Presidente da Comissão de Bioética e membro da Comissão de Biossegurança da UFLA. Foi Pró-reitor de Pesquisa da UFLA entre 2010 e 2012 e Assessor para Implantação do Parque Científico e Tecnológico de Lavras entre 2012 e 2013. Coordenou o curso de Pós-graduação Lato sensu em Farmacologia: atualização e novas perspectivas. Atualmente é Membro representante da Rede Mineira de Bioterismo. Membro da Rede Latinoamericana do Zebrafish-LAZEN e da Rede Iberoamericana CYTED LARVAplus. Revisor de periódicos científicos nacionais e internacionais - <http://lattes.cnpq.br/9261836492596804> - ismurgas@ufla.br

Marcelo Fanttini Polese - Doutor em Ciência Animal pela UENF. Professor do IFES – Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/6014968694498143>. mpolese@ifes.edu.br.

Marcus Vinicius Martins Gonzaga - Mestre em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Espírito Santo. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Espírito Santo (2013) e mestrado em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Espírito Santo (2015). <http://lattes.cnpq.br/0600142582893442>. marcusvmg@hotmail.com

Maria Angélica da Silva - Graduada em Engenharia de Pesca pela Universidade Federal Rural de Pernambuco- Unidade Acadêmica de Serra Talhada. Atuou no Museu de Oceanografia como monitora (2013-2015). Bolsista de FACEP-PIBIC (2014-2015) na ecologia de ambientes aquáticos com ênfase em macrófitas aquáticas; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8852280908379007> angelica12silva@gmail.com

Marília Cunha Lignon - Doutora em Oceanografia pela Universidade de São Paulo. Tem pós-doutorado na Université Libre de Bruxelles (Bélgica) e no INPE. Professora do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Registro. Coordenadora o grupo de Pesquisa do CNPq Monitoramento Integrado de Manguezais e é membro do Grupo de Especialistas em Manguezais da IUCN. <http://lattes.cnpq.br/6396735236608800>. cunha.lignon@unesp.br

Michelly Pontes Tavares Vieira - Graduanda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Atualmente é bolsista de iniciação científica - PIBIC da Universidade Federal de Santa Catarina. Tem experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, atuando principalmente com pesquisas na área de derivados lácteos sem lactose, alimentos fermentados e frutas nativas. Link para acesso do currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/1322068978291581>, email para contato: mick.pontes@gmail.com

Miguel Fiorin Schopf - Graduando em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina. Link para acesso do currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/2947360075200344>, email para contato: miguelfschopf@gmail.com

Mylena Amorim de Souza - Graduanda em Engenharia de Pesca pelo Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes Campus Piúma. Bolsista de Iniciação Científica – CNPq. CV: <http://lattes.cnpq.br/8077837826964739>. E-mail: mylemelody@gmail.com

Naiara Cristina Motta - Doutoranda em Zootecnia na área de Produção e Nutrição de Não Ruminantes pela Universidade Federal de Lavras (UFLA), com período sanduiche na Universidad Michoacana San Nicolas de Hidalgo, México. Mestre em Zootecnia pela Universidade Federal de Lavras (2017). Graduada em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (2014). Atuando na área de reprodução de peixes, com ênfase em preservação de gametas e fisiologia reprodutivada. - <http://lattes.cnpq.br/7989876586747823> - naiara.motta.ufv@gmail.com

Oswaldo Pinto Ribeiro Filho - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Viçosa (1989), mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1993) e doutorado - Departamento de Zootecnia (1999). Atualmente é professor da Universidade Federal de Viçosa. Tem experiência na área de Ciências Biológicas e Agrárias, atuando principalmente nos seguintes temas: instalações para rãs e peixe, alimentação, desempenho, aquicultura, reprodução e rã-touro. E-mail: oribeiroufv@hotmail.com. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4470574323962701>

Paola de Oliveira Santos - Graduanda em Engenharia de aquicultura; Instituto Federal do Espírito Santo. Graduanda em Engenharia de Aquicultura no Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Espírito Santo campus de Alegre. <http://lattes.cnpq.br/3352096322602573>, paolamanfredini111@gmail.com.

Paula Zambe Azevedo - Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Espírito Santo. Graduada em Engenharia de Pesca pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - Ifes Campus Piúma. Técnica em Agroindústria pelo Ifes Campus de Alegre. CV: <http://lattes.cnpq.br/2236376389067802>. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3761-1943>. E-mail: zambepaula@gmail.com

Paulo Henrique Rocha Aride - Doutor em Biologia de Água Doce e Pesca Interior. Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM) - Campus Manaus Centro. <http://lattes.cnpq.br/9164471794674935>. Adriano.oliveira@ifam.edu.br.

Pedro Pierro Mendonça - Doutor em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense. Professor do Instituto Federal do Espírito Santo. <http://lattes.cnpq.br/3992381145892105>. ppierrom@ifes.edu.br. Obteve a graduação em Zootecnia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (2004), mestrado em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (2007) e doutorado em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (2011). Atualmente é professor do ensino médio, técnico e superior do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo no Campus de Alegre - ES.

Poliana Ribeiro dos Santos - Mestre pelo Programa de Pós-Graduação Profissional em Direito da Universidade Federal de Santa Catarina (PPGPD/UFSC), na área de concentração: Direito e acesso à justiça, linha de pesquisa: Acesso à justiça e formas alternativas de resolução de conflitos: a administração da justiça sob o enfoque do diálogo. Pós-graduada em Direito Penal e Processual Penal, com capacitação para o Ensino no Magistério Superior, pela Faculdade de Direito Professor Damásio de Jesus (2015). Bacharel em Direito, pela Universidade do Sul de Santa Catarina - UNISUL (2011). Graduada de Engenharia de Aquicultura, pela Universidade Federal de Santa Catarina. Atua como Advogada desde janeiro de 2013 e como professora desde 2017. Pesquisadora integrante do Núcleo de Estudos em Direito e Feminismos (CNPQ/UFSC). Atualmente é co-coordenadora do NCED/UFSC – Núcleo de Cidadania e Ensino Digital. Atua, principalmente, na área de direitos humanos, direitos das mulheres, mediação extrajudicial de conflitos, educação e novas tecnologias educacionais, aquicultura e direito do trabalho. Contato: polianaaribeiro@gmail.com

Ranilson de Souza Bezerra - Possui graduação em Engenharia de Pesca pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (1993), mestrado em Bioquímica pela Universidade Federal de Pernambuco (1996) e doutorado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (2000). Atualmente é associado VI da Universidade Federal de Pernambuco. Atua também como colaborador (referee) de revistas como: Aquaculture, Food Chemistry, Aquatic Toxicology, Journal of Fish Biology, Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, Comparative Biochemistry and Physiology, Ecotoxicology, Journal of Agricultural and Food Chemistry, Bioresource Technology, Biochemical Engineering Journal, Applied Biochemistry and Biotechnology, Journal of Food Biochemistry e Polymer Engineering and Science, entre outras, todas de alto impacto internacional na área. Faz parte como membro permanente do corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia/CCB-UFPE (nível 4 Capes), do Programa de Pós Graduação em em Ciência Biológicas/CCB-UFPE (nível 5 Capes). Tem experiência na área de Bioquímica de organismos aquáticos, com ênfase em processos Biotecnológicos e Enzimologia visando a extração, purificação, caracterização e aplicação de moléculas bioativas de recursos pesqueiros, inclusive com vários artigos publicados sobre os temas em revistas internacionais como: Aquaculture Nutrition; Aquaculture Research; Environmental Toxicology and chemistry; Process Biochemistry; Food chemistry; Neuroscience Letters; Alcoholism, Clinical and Experimental Research; Journal of Food Biochemistry; e Brazilian Journal of Food Technology, entre outras, além de projetos aprovados também sobre os temas em órgãos de fomento como: FINEP, CNPq, FACEPE, MPA, PETROBRAS e EMBRAPA. Possui ainda um intercâmbio científico com grupos de outras instituições e/ou Universidades como: UFRPE, IPA, UNICAP, EMBRAPA, UFRN, UFC, USP, UNIFESP, ITEP. A formação de recursos humanos merece destaque. Desde 2005 vem orientando monografias, dissertações e teses, perfazendo cerca de 100 orientações. Dentre estas, orientou Engenheiros de Pesca, Biólogos, Biomédicos, Agrônomos, Médicos Veterinários, entre outros, o que dá um caráter multidisciplinar ao seu grupo de pesquisa. Muitos desses egressos estão formando novos grupos de pesquisas em instituições públicas e privadas como: UFPE, UFMA, UFPB, UFRN, UFAL, UFBA, IPA, Embrapa, IBGM, entre outras. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2205151409139871> ransoube@uol.com.br

Rafael Lucas de Oliveira Silva - Zootecnista e mestrando em Fisiologia Animal pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Atualmente trabalha com nutrição e reprodução da rã-touro no Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Atuou no Apiário Central da UFV desenvolvendo pesquisa com melhoramento genético e nutrição de Apis mellifera, assim como no estudo da ecofisiologia e ecotoxicologia de suas colônias e da tribo Meliponini. Atuou na conservação de animais silvestres com recebimento, triagem, contenção, manejo, destinação, alimentação e nutrição animal no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS-UFV) e com análises bromatológicas e formulação de rações no Laboratório de Nutrição Animal (DZO-UFV). Atua em: Aquicultura, apicultura e na criação comercial de animais silvestres. E-mail: rafaellucas827@gmail.com. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3722552996608105>

Ramires Eloise Queiroz Rafael - Possui graduação em Engenharia de Pesca (2017) pela UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco/UAST - Unidade Acadêmica de Serra Talhada. Fez mestrado em Ciências Biológicas (2020) pela UFPE - Universidade Federal de Pernambuco, onde atuou na área de Biotecnologia voltada para Aquicultura, com ênfase em Bioquímica e Nutrição de Organismos Aquáticos. Possui experiências com desenvolvimento de produtos nutricionais para aquicultura, aproveitamento de resíduos do pescado e larvicultura de camarão marinho. Atualmente é doutoranda em Aquicultura pela UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina, onde atua com integração de camarões marinhos e aquaponia, em sistema de bioflocos.; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9814840610085923> eloise.ramires@gmail.com

Renata Coelho Cavalcanti - Finalista do curso de Medicina Veterinária na Universidade Nilton Lins, Manaus - AM, com pesquisa desenvolvida na área de Aquicultura.

Rodrigo Ghisi Tobaldini - graduando em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina. Link para acesso ao currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/>, e-mail: ghigot@gmail.com

Rosali Barboza Cavalline - Mestranda em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Graduada em Engenharia de Pesca pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - Ifes Campus Piúma. Técnica em Meio Ambiente pela Secretaria de Estado da Educação do Espírito Santo (SEDU). CV: <http://lattes.cnpq.br/7826578181357248>. E-mail: rosalicavalline@gmail.com

Samuel Oliveira da Silva - Graduando em Engenharia de aquicultura; Instituto Federal do Espírito Santo. Possui ensino-medio-segundo-graupela Escola Família Agrícola de Cachoeiro de Itapemirim (2017). <http://lattes.cnpq.br/2925485868309443>, engquisamuel@gmail.com

Sérgio de Almeida Piconi - Engenheiro de Pesca pelo IFES – Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/2091284596798718>. Sergiopiconi6@hotmail.com.

Silvani Verruck - Possui graduação em Tecnologia em Alimentos pelo Instituto Federal Catarinense (2012), mestrado (2014) e doutorado (2019) pelo Programa de

Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. Realizou pós-doutorado (PDJ-CNPq) pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (2019). Atualmente é Professora Adjunta A do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. Atua como pesquisadora nas áreas de Ciência e Tecnologia de Alimentos, com ênfase em microbiologia de alimentos e tecnologia de produtos de origem animal, atuando principalmente nos seguintes temas: Digestibilidade de Alimentos, simulação do sistema gastrointestinal para avaliação de inativação/sobrevivência/interação de microrganismos patogênicos/probióticos em produtos lácteos, cárneos e de pescado, simulação do sistema gastrointestinal para avaliação do comportamento e biodisponibilidade de componentes em alimentos, microbiologia de alimentos, reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR), antioxidantes e antimicrobianos naturais para aplicação em derivados cárneos e lácteos, tecnologia de produtos lácteos, bactérias probióticas, derivados de leite de búfala, derivados de leite de cabra e microencapsulação de bactérias probióticas. Participa da rede de pesquisa internacional em digestibilidade de alimentos (INFOGEST). Link para acesso ao currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/0161337771857619>, e-mail para contato: silvani.verruck@ufsc.br

Silvia Umeda Gallani - Médica Veterinária (2011) formada pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), possui mestrado (2015) e doutorado (2019) em Aquicultura pelo Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), e pós-doutorado pelo Programa Nacional de Cooperação Acadêmica na Amazônia. Atualmente é Docente Adjunto I da Universidade Nilton Lins (UNL), colaborador no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura (UNL/INPA) e responsável pelo Laboratório de Microbiologia Aplicada à Organismos Aquáticos, onde coordena projetos de pesquisas em Sanidade Aplicada à Aquicultura e orienta alunos da graduação e pós-graduação. Colabora como revisora em periódicos nacionais e internacionais.

Thayná de Souza Pardo - Graduanda em Engenharia de aquicultura; Instituto Federal do Espírito Santo, possui ensino-medio-segundo-graupelo Colégio Contec (2017). Tem experiência na área de Genética. <http://lattes.cnpq.br/9659777525837376>, eng.thaynapardo@gmail.com

Thiago Barbosa Cahú - Possui graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Biotecnologia pela Universidade de Pernambuco (2007) e Mestrado em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco (2010) e doutorado em Ciências Biológicas, área de concentração Biotecnologia, pela Universidade Federal de Pernambuco (2014). Tem experiência na área de Bioquímica e Biologia Celular, com ênfase em Biotecnologia de Processos, Cultura de Células, Enzimologia, Carboidratos e Glicobiologia. ORCID Link: <https://orcid.org/0000-0002-7853-0613>. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2895044159302657> thiagocahu@yahoo.com.br

Thiago Bernardo de Souza - Mestre em Ecologia pela Universidade Vila Velha (UVV). Professor do IFES - Campus Alegre. <http://lattes.cnpq.br/0476168686103695>. Tbernardo@ifes.edu.br

Vitória Feilstrecker Bohn - Técnica em informática pelo colégio Colégio Luterano Arthur Konrath (2013) e graduanda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina. Link para acesso ao currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/6687802459301067>. e-mail: bohnvitoria@gmail.com.

ÍNDICE REMISSIVO

<i>A</i>	
Acanthocephala.....	133, 135, 137, 138
Antibacteriana	196
<i>B</i>	
Beneficiamento	164
Bioinvasão	27
BIVALVES.....	215
Branchiura	150, 152, 154, 158, 163
<i>C</i>	
Carcaça.....	100
carne.....	42, 76, 79, 83, 84, 85, 89, 91, 94, 95, 96, 97, 167
CATFISH.....	164
Cestoda.....	133, 135, 139, 140, 145
CITOTOXICIDADE	196
Copepoda.....	150, 152, 154, 161, 162, 163
<i>Crassostrea brasiliana</i>	27, 28, 29, 34
Criopreservação	46, 58
Crustacea.....	150, 152, 162, 163
CRUSTÁCEOS.....	150
Cultivo	74, 75, 76, 98, 232
<i>D</i>	
Densidade	61, 194
Desova	179, 183, 185
DIETAS	100, 118
Digenea.....	133, 135, 139
Direito.....	9, 10, 19, 233, 234, 235, 241, 244, 246, 247
<i>E</i>	
ECTOPARASITOS.....	150
ENSEADA	76
Eosina-Negrosina.....	46, 48, 49, 55
espermática.....	48, 49, 55, 58
<i>F</i>	
Ficotoxinas.....	75, 215, 229, 232
FICOTOXINAS	215
FLORIANÓPOLIS	215
<i>G</i>	
Girinos.....	179, 185

<i>H</i>	
HELMINTOS	133
Hidrolisado	115, 116, 118, 122
HIDROLISADO	100
HIDRÓLISE	100
Hidrólise enzimática	100
Histologia	100, 116
<i>I</i>	
<i>Ictalurus punctatus</i>	164, 168, 171
Ictioparasitologia	150
Imidas	196, 199, 200, 207
INCLUSÃO	100
Incremento	70, 76, 91
Ingrediente	100, 104
INGREDIENTES	118
Isopoda	150, 152, 154
<i>L</i>	
Lamarck	76
<i>Lithobates catesbeianus</i>	179, 181, 184, 185, 186, 187, 188, 190, 191, 195
<i>Litopenaeus vannamei</i>	118, 119, 120, 121, 130
<i>M</i>	
Malacocultura	215
<i>Mangue</i>	33, 34
Maricultura	14, 61, 75, 76, 78, 97, 215, 232
meio ambiente do trabalho equilibrado	233, 234, 241, 242, 243
membrana	46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 188, 227
Mexilhão	76, 98, 215, 216, 221, 222, 223
MEXILHÃO	76
Mexilhão do mediterrâneo	76
Moluscos	10, 73, 75, 215, 216, 218, 229, 230, 232
MOLUSCOS	215, 230
Monogenea	133, 135, 138, 147
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	76, 79, 80, 81, 88, 96, 97
<i>N</i>	
Nematoda	133, 135, 141, 145
<i>Nodipecten nodosus</i>	60, 61, 62, 63, 73, 74, 75, 78, 98
Nutrição	11, 12, 15, 16, 17, 18, 20, 100, 118, 122, 168
<i>O</i>	
<i>Oreochromis niloticus</i> ..	100, 102, 116, 117, 123, 129, 130, 131, 132, 147, 164, 168, 171, 175, 177, 213
Ostra	41, 42, 215
OSTRAS	27

P

PARASITISMO	133
PARASITOS	133
Pectinidae	60, 61, 73
Peixe	46, 104, 144
PEIXES	118, 133, 150
Piscicultura.....	11, 16, 49, 75, 148, 163, 196, 213
PÓS-LARVAS	100
Processamento	148, 164, 175, 177
Prochilodus lineatus.....	46, 47, 49, 51, 52, 54, 55, 57, 58, 59, 146
Proteases.....	118, 119, 129

Q

QUALIDADE SANITÁRIA.....	164
--------------------------	-----

R

Rã-touro.....	179
RÃ-TOURO.....	179

S

<i>Saccostrea cucullata</i>	27, 28, 29, 34, 44
Salinidade.....	36, 86, 179
SALINIDADE	179
<i>Salmonella sp.</i>	164, 165, 166, 167, 171, 172, 176
SAMBAQUI	215
Sanidade.....	14, 15, 22, 164
Sobrevivência	61, 65, 88, 106
SOCIOECONÔMICAS.....	27
Sondas fluorescentes	46
<i>Staphylococcus aureus</i>	127, 164, 165, 166, 167, 168, 171, 172, 176, 177, 202, 208
SUSTENTÁVEL	118

T

TAMBAQUI.....	196
TILÁPIA	100, 164
trabalho decente.....	233, 234, 235, 236, 237, 238, 240, 241, 242, 243, 244
Tratamento	168, 196

U

Unidade de Conservação.....	27, 29, 30
-----------------------------	------------

V

VIEIRAS.....	60
--------------	----

OSTRAS NATIVAS E EXÓTICAS EM ÁREAS PROTEGIDAS DO LITORAL SUL DE SÃO PAULO E IMPLICAÇÕES AMBIENTAIS E SOCIOECONÔMICAS

Marília Cunha Lignon¹; Fernanda Bellinfante de Avellar²

RESUMO

O Sistema Costeiro Cananéia-Iguape, no litoral sul do Estado de São Paulo, possui grande diversidade biológica e cultural, e em função disso apresenta diversas Unidades de Conservação (UC). A ostra de mangue, *Crassostrea brasiliiana*, é explorada comercialmente em Cananéia, desde 1940. A ostra *Saccostrea cucullata*, proveniente do Indo-Pacífico, foi registrada pela primeira vez em Cananéia, em 2017. O presente trabalho visa apresentar o estado da arte das ostras nativas *C. brasiliiana* e exóticas *S. cucullata* em Unidades de Conservação de Uso Sustentável, litoral sul de São Paulo, e discutir suas implicações ambientais e socioeconômicas. Para tanto, foram delimitadas duas parcelas em florestas de mangue, em cada estação do ano (inverno de 2019 e no verão de 2020) para coleta de ostras nativas e exóticas. As florestas de mangue estudadas apresentaram altas porcentagens de biomassa vegetal viva, indicando seu bom estado de conservação. A proximidade com a Nova Barra (conexão do canal lagunar com o oceano) pode estar contribuindo com os valores elevados de salinidade intersticial nas parcelas mais ao sul da área de estudo. As ostras nativas são mais frequentes na fase juvenil. As parcelas mais ao norte da área de estudo apresentaram maiores porcentagens de ostras nativas com comprimentos permitidos para extração (60 a 100mm). A importante presença de ostras exóticas ressalta a necessidade de monitoramento para auxiliar na gestão costeira dessa região.

Palavras-chave: *Crassostrea brasiliiana*. *Saccostrea cucullata*. Unidade de Conservação. Bioinvasão.

ABSTRACT

The Cananéia-Iguape Coastal System, on the southern coast of São Paulo State, has important biological and cultural diversity, and as a result it has several Protected Areas (PA). The mangrove oyster, *Crassostrea brasiliiana*, has been commercially exploited in Cananéia since 1940. The *Saccostrea cucullata* oyster, originating in the Indo-Pacific, was registered for the first time in Cananéia, in 2017. The current study aims to present the state of the art of native oyster *C. brasiliiana* and the exotic oyster *S. cucullata* in the Tumba Island Extractive Reserve and discuss their environmental and socioeconomic implications. To this end, two plots in mangrove forests were delimited, in each season (winter 2019 and summer 2020) to collect native and exotic oysters. The mangrove forests studied showed high percentages of live biomass vegetation, indicating their good state of conservation. The proximity of the new connection to the ocean may be contributing to the high values of interstitial salinity in the southernmost portion of the study area. Native oysters are more frequent in the juvenile stage. The northernmost plots of the study area showed higher percentages

¹ Doutora em Oceanografia pela Universidade de São Paulo. Professora do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Estadual Paulista, Campus de Registro. <http://lattes.cnpq.br/6396735236608800>. cunha.lignon@unesp.br

² Graduanda em Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual Paulista, Campus de Registro. <http://lattes.cnpq.br/1172469629065402>. fernanda.avellar@unesp.br

of native oysters with permitted lengths for extraction. The important occurrence of exotic oysters highlights the need for monitoring to assist in coastal management in this region.

Keyword: *Crassostrea brasiliiana*. *Saccostrea cucullata*. Protected Area. Bioinvasion.

INTRODUÇÃO

Os manguezais são um dos ecossistemas costeiros mais importantes das regiões tropicais e subtropicais, pois fornecem uma série de benefícios para as comunidades humanas. Podemos citar diversas funções, como áreas de alimentação e de berçário, proteção contra erosão, estabilização do clima, beleza cênica entre outras que são prestadas pelos manguezais (UNEP, 2014).

O litoral sul do Estado de São Paulo possui grande diversidade paisagística, formada por praias, manguezais, restingas, floresta atlântica, estuário, rios e alagados. Esse contexto proporciona alta diversidade biológica, constituindo a Reserva da Biosfera da Mata Atlântica e o Sítio do Patrimônio Mundial Natural, ambos reconhecidos pela UNESCO, na década de 1990. Além disso, a região faz parte do Mosaico de Áreas Protegidas do Lagamar, criado em 2006, que abrange o litoral sul de São Paulo e litoral do Paraná (CUNHA-LIGNON et al., 2015).

O trecho de São Paulo abriga as áreas mais extensas e conservadas de manguezal do estado (CUNHA-LIGNON et al., 2009), com cerca de 11.943 ha (CUNHA-LIGNON, 2020), as quais propiciam abrigo e alimentação para inúmeras espécies de peixes marinhos e dulcícolas, crustáceos e moluscos, tornando a região extremamente importante para as atividades pesqueiras artesanal e industrial (MENDONÇA, 2010).

A ostra de mangue, *Crassostrea brasiliiana*, é explorada comercialmente no estuário de Cananéia desde a década de 1940, inicialmente para a subsistência, e comercialmente após a década de 1950. Porém, segundo Santos et al. (2009), foi a partir da década de 1970 que essa atividade passou a ter importância econômica como alternativa para os pescadores artesanais da região. De 1997 a 2007, a ostra foi o principal produto comercializado pela pesca artesanal de Cananéia (MENDONÇA, 2007). Embora sua contribuição seja pequena quando comparada ao total de pescado desembarcado, consiste em um dos principais produtos da área estuarina do município, beneficiando diretamente cerca de uma centena de famílias (MACHADO, 2009; MACHADO et al., 2010).

A ostra *Saccostrea cucullata*, proveniente do Indo-Pacífico, foi registrada pela primeira vez em 2014, na costa brasileira, na região de Bertioga (SP). Observada perto do porto de Santos (SP), o maior porto comercial da América Latina, acredita-se que sua chegada no país seja devido às atividades dos navios: água de lastro e incrustações dos cascos (GALVÃO et al., 2017). *S. cucullata* foi registrada fixada a substratos naturais (raízes de mangue, costões rochosos e cascalhos) e artificiais (porto, marina e cais), formando grupos de muitos indivíduos e coabitando com espécies de ostras nativas (*Crassostrea mangle*, *C. brasiliana* e *Ostrea puelchana*). Mais recentemente, Amaral et al. (2020) registraram essa espécie exótica nos estados do Rio de Janeiro, Paraná e Santa Catarina, e novas áreas no Estado de São Paulo.

Gil e Cunha-Lignon (2019) realizaram mapeamento da distribuição da ostra exótica *S. cucullata* nos manguezais do litoral sul de São Paulo. De acordo com aquelas autoras, essa espécie exótica está concentrada no trecho sul do sistema costeiro e foi registrada pela primeira vez por membros de comunidade local tradicional, em 2017. A ostra exótica foi registrada nos rizóforos de *Rhizophora mangle* (mangue vermelho) como sobre o sedimento areno-lodoso próximo às raízes. Além disso, foi observada em estruturas de engorda de ostra nativa, costões rochosos e estruturas náuticas, em área estuarina, fora do ecossistema manguezal (GIL e CUNHA-LIGNON, 2019).

O presente trabalho visa apresentar o estado da arte das ostras nativas *Crassostrea brasiliana* e exóticas *Saccostrea cucullata* em Unidade de Conservação de Uso Sustentável no litoral sul de São Paulo, além de discutir suas implicações ambientais e socioeconômicas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de Estudo

O Mosaico de Unidades de Conservação do Jacupiranga (MOJAC), composto por 14 Unidades de Conservação (UCs) de diversas categorias de manejo, localiza-se no litoral sul de São Paulo e Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. O MOJAC, criado pela Lei Nº 12.810, de 21 de fevereiro de 2008, é composto por três Parques Estaduais (PE), quatro Áreas de Proteção Ambiental (APA), cinco Reservas de Desenvolvimento Sustentável (RDS) e duas Reservas Extrativistas (RESEX). São elas: PE Caverna do Diabo, PE do Rio Turvo, PE Lagamar de Cananéia; APA dos Quilombos do Médio Ribeira, APA de Cajati, APA do Rio Vermelho e Rio Pardinho,

APA Planalto do Turvo; RDS de Lavras, RDS dos Quilombos de Barra do Turvo, RDS dos Pinheirinhos, RDS Barreiro/Anhemas e RDS Itapanhapima; RESEX Taquari e RESEX Ilha do Tumba.

A RDS Itapanhapima, RESEX Taquari e RESEX Ilha do Tumba localizam-se no município de Cananeia (Figura 1), e possuem 924,88 ha, 324,23 ha e 625,10 ha de áreas de manguezal, respectivamente, de acordo com mapeamento de Damásio Neto (2018), o qual utilizou imagens de satélite Sentinel-2/MSI (10 m de resolução), de 29/07/2018 (Tabela 1).

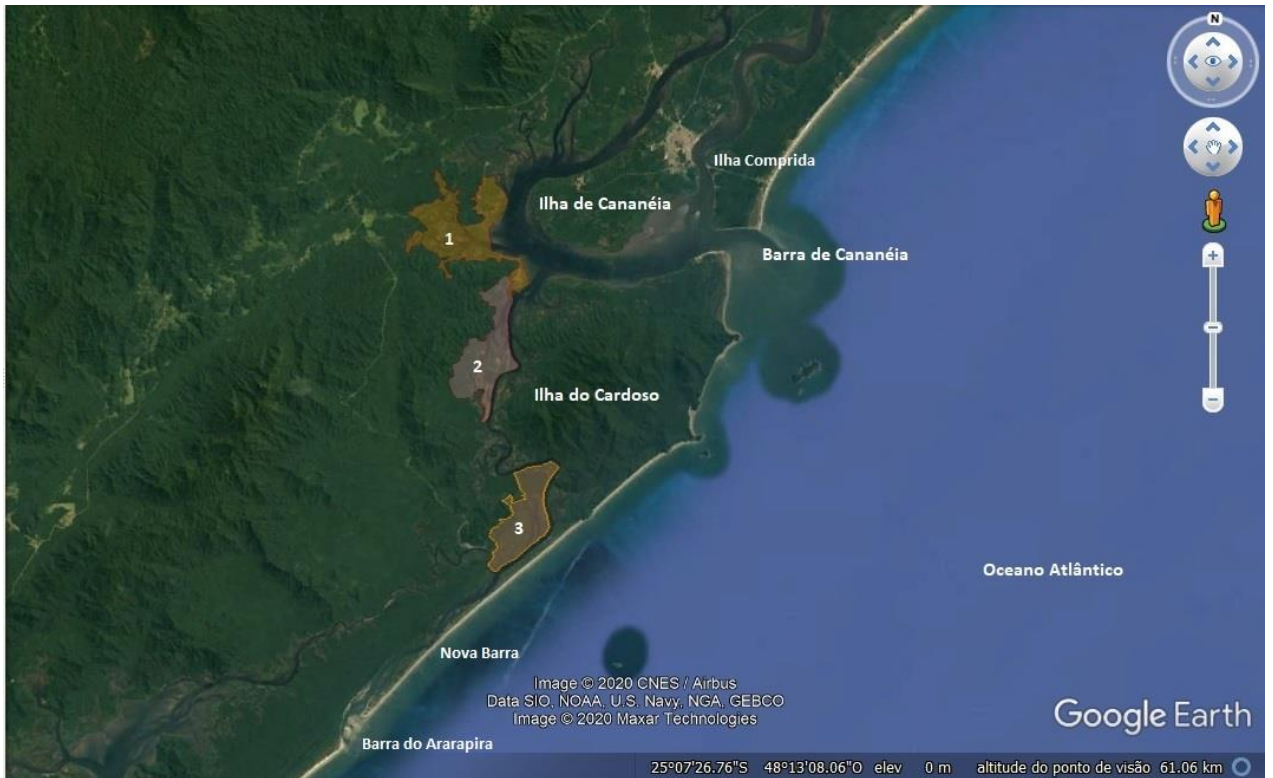
Tabela 1 – Áreas dos manguezais nas Unidades de Conservação (UCs) de Uso Sustentável, no litoral sul de São Paulo.

Unidade de Conservação	Área Total da UC (ha)	Área de manguezal (ha)
RESEX Taquari	1.662,20	924,88
RDS Itapanhapima	1.242,70	324,23
RESEX Ilha do Tumba	1.128,26	625,10

Fonte: Damásio Neto (2018)

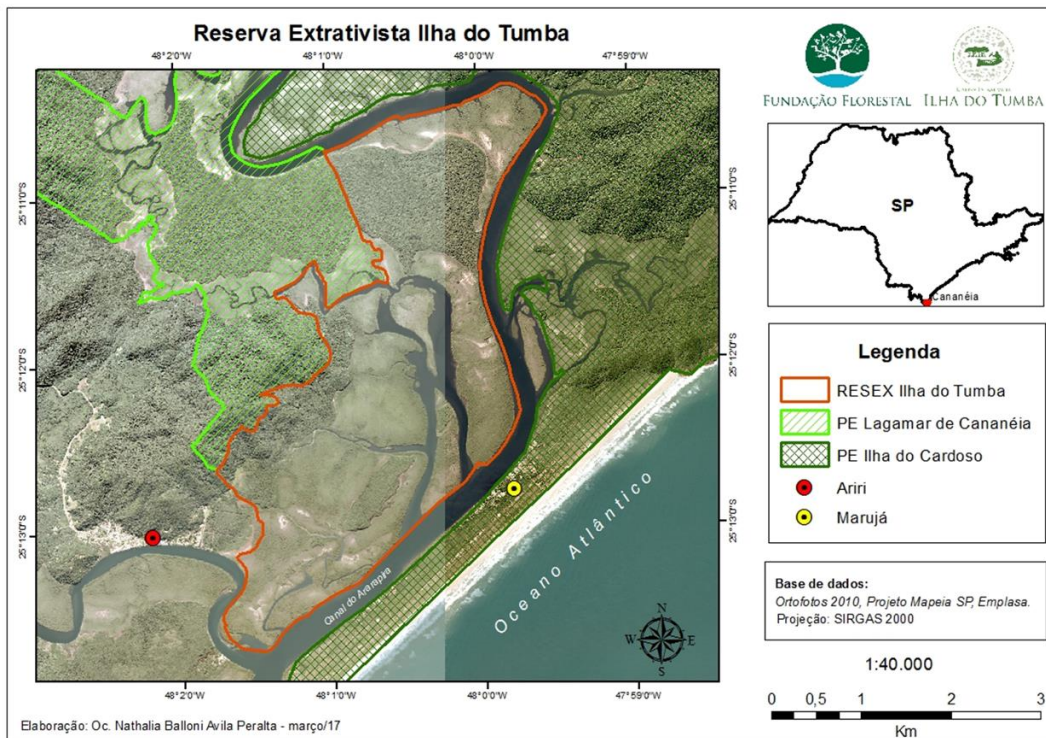
A RESEX Ilha do Tumba tem como beneficiários as comunidades do Marujá (Ilha do Cardoso) e do Ariri (Figura 2), e apresenta área total de 1.128,26 ha. Criada em 2008, a RESEX abriga importantes áreas de manguezais conservados (Figura 3) e tem como objetivos preservar a natureza e, ao mesmo tempo, assegurar as condições e os meios necessários para a reprodução e a melhoria dos modos e da qualidade de vida e exploração dos recursos naturais das populações tradicionais, bem como valorizar, conservar e aperfeiçoar o conhecimento e as técnicas de manejo do ambiente, desenvolvido por estas populações, requerendo gestão comum e participativa entre órgão gestor e moradores (FUNDAÇÃO FLORESTAL, 2010).

Figura 1 – Área de estudo: Litoral sul de São Paulo, com destaque para Unidades de Conservação de Uso Sustentável. 1. Reserva Extrativista do Taquari; 2. Reserva de Desenvolvimento Sustentável Itapanhapima; 3. Reserva Extrativista Ilha do Tumba.



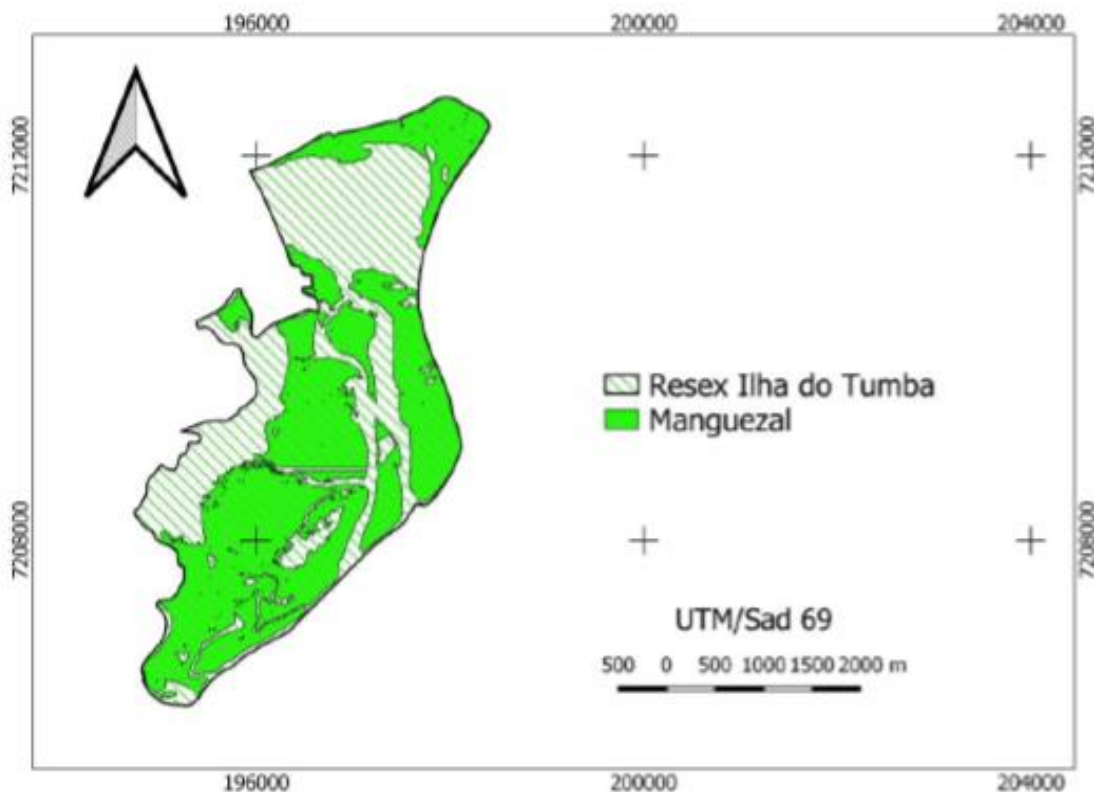
Fonte: Google Earth. Elaborado pelas autoras.

Figura 2 - Localização detalhada da Reserva Extrativista Ilha do Tumba, Unidades de Conservação do entorno e comunidades beneficiárias: Ariri e Marujá.



Fonte: Fundação Florestal, SP.

Figura 3 – Áreas de manguezal na RESEX Ilha do Tumba.



Fonte: Damásio Neto (2018)

Coleta de dados

As coletas de ostras em campo foram realizadas nos dias 17 e 18 de agosto de 2019 (inverno) e 14 e 15 de março de 2020 (verão), na RESEX Ilha do Tumba. As equipes em cada campanha foram compostas por cinco pessoas. O deslocamento de barco, auxílio na escolha das áreas de estudo e coleta das ostras foram realizadas em colaboração com pescador local, morador do Marujá (Ilha do Cardoso).

Foram delimitadas duas parcelas em florestas de mangue na RESEX Ilha do Tumba, em cada estação do ano: inverno (P1-I e P4-I, em agosto de 2019) e verão (P1-V e P4-V em março de 2020). A localização das parcelas foi registrada com auxílio de GPS Garmin 86S (Tabela 2 e Figura 4).

Tabela 2 - Localização geográfica das parcelas P 1 e P4, na RESEX Ilha do Tumba.

I: inverno (agosto/2019); V: verão (março/2020).

Parcela	Coordenada Geográfica
P1-I	25°10'58.10"S / 47°59'52.50"W
P4-I	25°13'15.00"S / 48° 0'46.20"W
P1-V	25°10'30.27"S / 47°59'34.27"W

P4-V	25°13'30.03"S / 48° 1'12.28"W
------	-------------------------------

Fonte: Elaborado pelas autoras.

Figura 4 – Localização das parcelas P1 e P4, nas áreas de manguezal na RESEX Ilha do Tumba. I: inverno (agosto/2019); V: verão (março/2020).



Fonte: Google Earth. Elaborado pelas autoras.

Estrutura Vegetal das Florestas de Mangue

Para o estudo da estrutura das florestas de mangue e salinidade intersticial nas parcelas foi utilizada metodologia proposta por Schaeffer-Novelli et al. (2015). As áreas das parcelas variaram conforme a densidade das florestas de mangue. Em campo, foram obtidas as medidas de diâmetro à altura do peito (DAP) de cada tronco e altura de cada árvore típica de mangue, além disso foi anotada a condição de cada tronco (vivo ou morto) de cada árvore. Posteriormente, na universidade, foram calculados os valores de DAP médio, altura média, dominância em área basal por espécie e dominância em área basal de troncos vivos e mortos, nas parcelas P1 e P4, nas coletas de inverno de 2019 e verão de 2020.

A salinidade intersticial (do sedimento) foi obtida nas regiões das parcelas delimitadas nos manguezais, a 10cm e a 50cm de profundidades (SCHAEFFER-NOVELLI et al., 2015), com auxílio de um refratômetro manual, no inverno de 2019 e no verão de 2020.

Ostras Nativas e Exóticas

Para a coleta das ostras, foi delimitada uma subparcela de 9m² (3x3m) em cada parcela nas florestas de mangue. Todas as ostras fixadas aos rizóforos foram coletadas nas subparcelas. Após coleta, as ostras foram acondicionadas em caixas armazenadoras e posteriormente, congeladas em freezer. As ostras soltas no sedimento não foram coletadas.

Para biometria das ostras foram obtidos os dados de comprimento, largura, altura e anotados em planilhas (em milímetros), com uso de paquímetro digital. Foram identificadas as ostras nativas *Crassostrea brasiliiana* e exóticas *Saccostrea cucullata*. Depois de realizada a biometria, o peso total das ostras nativas e exóticas por subparcela foi registrado com uso de balança digital Tomate®.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Estrutura Vegetal das Florestas de Mangue

Em relação à caracterização da estrutura vegetal das florestas de mangue, observa-se que são bosques com desenvolvimento estrutural intermediário a maduros (Tabela 3).

Tabela 3 – Caracterização da estrutura vegetal das florestas de mangue, na RESEX Ilha do Tumba, nas parcelas P1 e P4. I: inverno (agosto/2019); V: verão (março/2020).

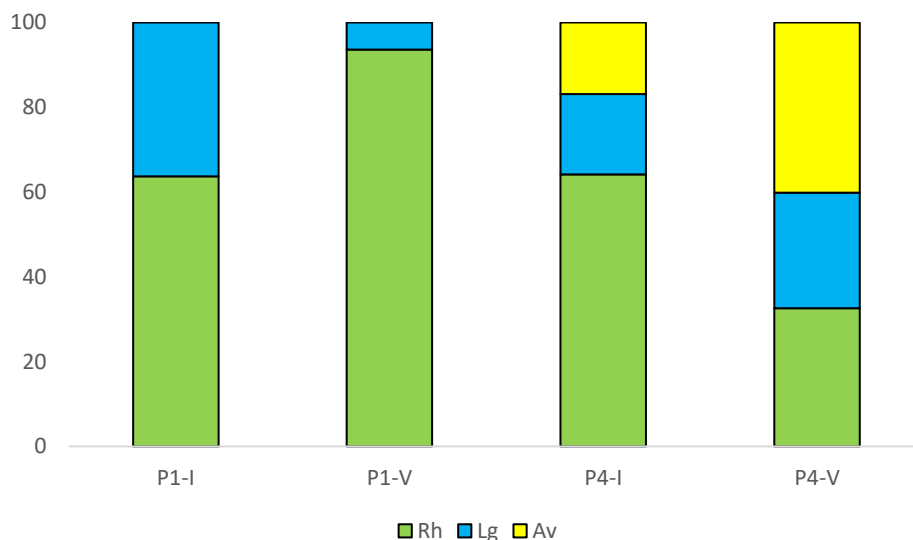
Parcela	DAP médio (cm)	Altura média do bosque (m)	Altura superior do bosque (m)
P1-I	5,2	3,8	5,7
P4-I	6,8	5,2	9,5
P1-V	8,8	5,9	9,7
P4-V	7,3	4,4	9,1

Fonte: Elaborado pelas autoras.

Nas parcelas P1-I e P1-V, localizadas ao norte da RESEX Ilha do Tumba, dominou *R. mangle* (mangue vermelho), com 64% e 95%, respectivamente. Na P1-I houve ocorrência de 36% de *Laguncularia racemosa* (mangue branco) (Gráfico 1).

As parcelas localizadas ao sul da RESEX Ilha do Tumba, P4-I e P4-V, apresentaram características de bosques de mangue mistos, compostas por *R. mangle*, *L. racemosa* e *Avicennia schaueriana* (mangue preto), com 64% (Rh), 19% (Lg) e 17% (Av), respectivamente, na P4-I, e com 33% (Rh), 27% (Lg) e 40% (Av), na P4-V (Gráfico 1).

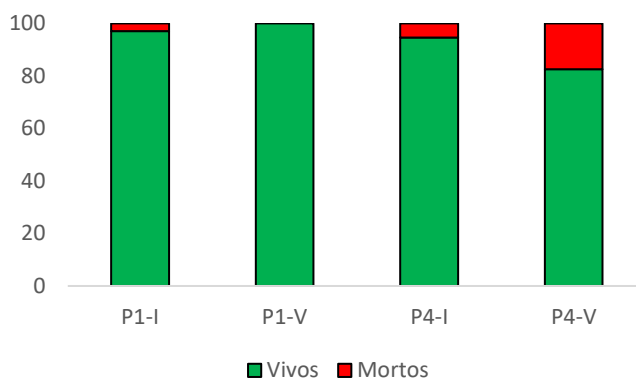
Gráfico 1 – Dominância em área basal por espécie, nas parcelas P1 e P4, no inverno (I) e no verão (V). Rh: *Rhizophora mangle*; Lg: *Laguncularia racemose*; e Av: *Avicennia schaueriana*.



Fonte: Elaborado pelas autoras.

As florestas de mangue estudadas, nas parcelas P1 e P4, apresentaram baixas porcentagens de troncos mortos (3% na P1-I, 0% na P1-V, 5% P4-I e 17% na P4-V) (Gráfico 2), indicando bom estado de conservação das florestas. Cunha-Lignon et al. (2015) registrou menos de 20% de troncos mortos em florestas de Cananéia monitoradas em parcelas permanentes, como sendo indicação de bom estado de conservação.

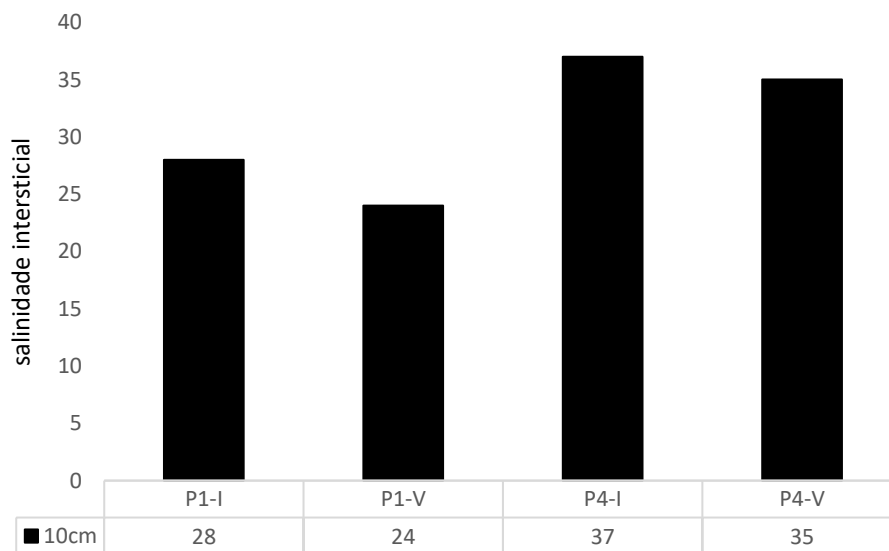
Gráfico 2 – Dominância em área basal de troncos vivos e mortos, nas parcelas P1 e P4, no inverno (I) e no verão (V).



Fonte: Elaborado pelas autoras.

Em relação à salinidade intersticial, os resultados a 10 cm e 50 cm de profundidades se mostraram similares nas áreas estudadas. No presente estudo serão apresentados os valores a 10 cm de profundidade de modo a simplificar a informação. Observa-se que os valores de salinidade intersticial nas parcelas P4-I e P4-V apresentaram-se mais elevados do que a salinidade nas parcelas P1-I e P1-V (Gráfico 3). Florestas de mangue delimitadas por parcelas permanentes e monitorados na região de Cananéia e Icapara registraram valores de salinidade intersticial em torno de 26 e 28, em anos anteriores (CUNHA-LIGNON et al., 2015). Acredita-se que a maior proximidade das parcelas P4-I e P4-V com a Nova Barra (Figura 5) seja responsável pela maior entrada de água mais salina, contribuindo assim para aumento da salinidade intersticial. Os resultados de salinidade intersticial de inverno foram mais elevados do que os de verão, provavelmente pela estação do ano ser menos chuvosa, contribuindo para o aumento da salinidade intersticial (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Salinidade intersticial nas parcelas P1 e P4, de inverno (I) e verão (V), a 10 cm de profundidade.



Fonte: Elaborado pelas autoras.

Ostras Nativas e Exóticas

Considerando-se que as ostras foram coletadas em subparcelas de mesma área (9m²), observa-se que os manguezais onde se delimitaram as parcelas P4-I e P4-V apresentaram maior número total de ostras coletadas do que os manguezais onde se delimitaram as parcelas P1-I e P1-V (Tabela 4). Foram coletadas 29,1 kg no

inverno de 2019 e 37,6kg no verão de 2020 no total de ostras (Tabela 4). Foram coletadas 14,6%, 17,0%, 16,2% e 8,7% de ostras exóticas (*S. cucullata*), nas parcelas P1-I, P4-I, P1-V e P4-V, respectivamente (Tabela 4).

De acordo com a SUDEPE (1986), é permitido coleta de ostras nativas *C. brasiliiana* entre 60 a 100mm de comprimento. Nas áreas estudadas, 17% (P1-I), 19% (P1-V), 7% (P4-I) e 5% (P4-V) das ostras nativas encontravam-se nessa faixa de comprimento (Tabela 4). Observa-se que as parcelas localizadas ao norte da RESEX Ilha do Tumba (P1) apresentaram maiores porcentagens de ostras nativas com comprimentos permitidos para extração (Tabela 4).

Tabela 4 - Porcentagem e peso total de ostras nativas e exóticas coletadas na RESEX Ilha do Tumba, nas parcelas P1 e P4. I: inverno (agosto/2019); V: verão (março/2020).

Parcela	Número Total de Ostras	Ostras nativas (%)	Ostras exóticas (%)	Peso total (kg)	Porcentagem de ostras nativas entre 60 e 100mm (%)
P1-I	768	85,4	14,6	13,2	17
P4-I	1.330	83,0	17,0	15,9	7
P1-V	612	83,8	16,2	12,3	19
P4-V	1.626	91,3	8,7	25,3	5

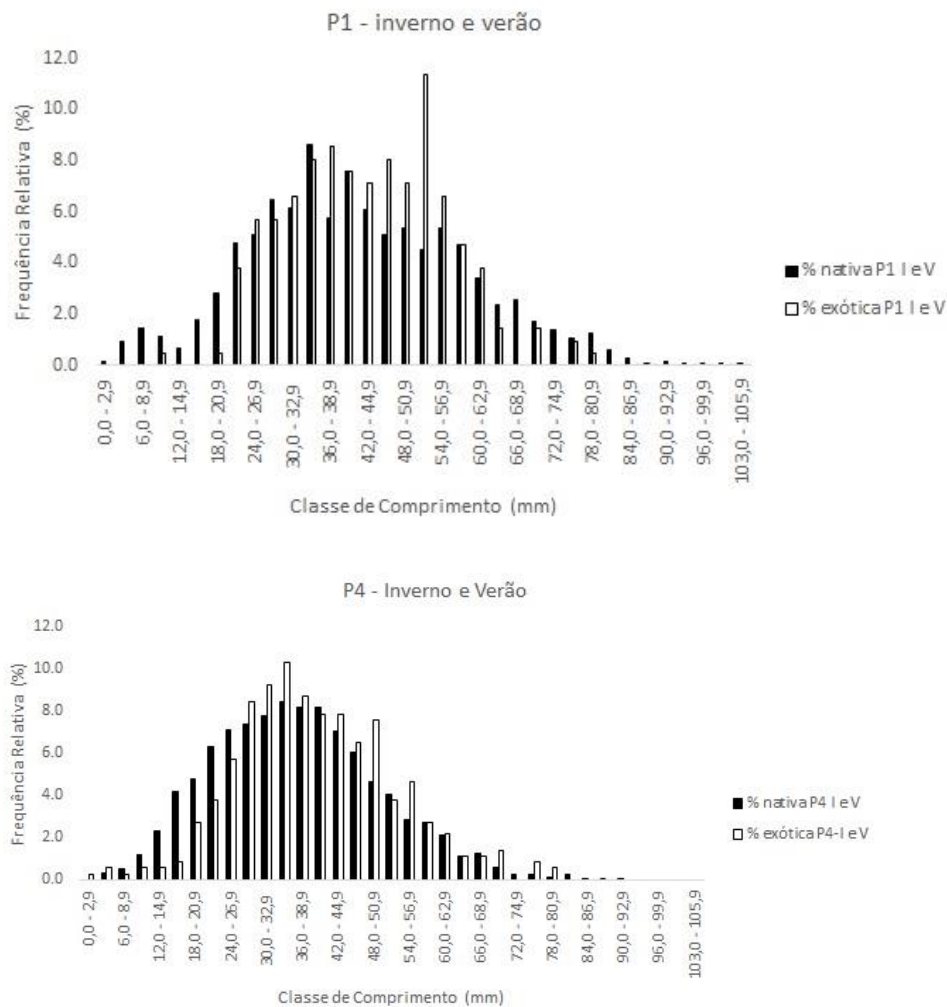
Fonte: Elaborado pelas autoras.

As frequências relativas por classes de comprimento e de altura das ostras nativas e exóticas são apresentadas nos gráficos 4 e 5, respectivamente. As classes de comprimento apresentam curva normal padrão para as duas espécies de ostras.

De acordo com Lam e Morton (2004), as espécies de *Saccostrea* têm as valvas menores do que as espécies de *Crassostrea*, podendo chegar até 40mm de comprimento, com seu desenvolvimento dependente do espaço disponível no substrato. No presente estudo, observou-se que as ostras exóticas *S. cucullata* apresentaram maiores comprimentos na região do presente estudo, nas duas estações do ano, atingindo 80,0mm e 80,9mm de comprimento, em P1 e P4, respectivamente (Gráfico 4).

Gráfico 4 – Distribuição da frequência relativa por classes de comprimento das ostras nativas e exóticas, na RESEX Ilha do Tumba, nas parcelas P1 e P4.

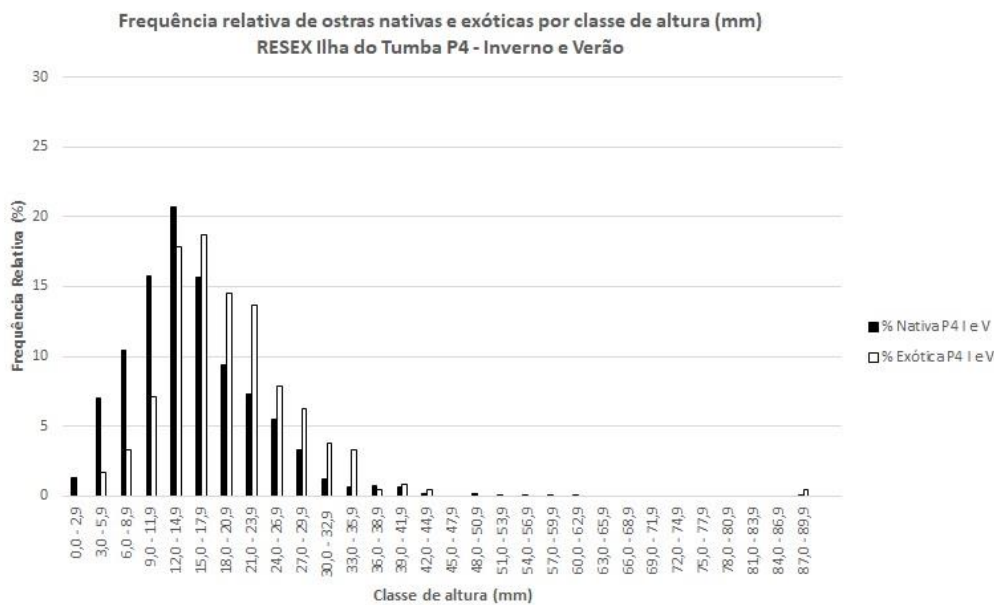
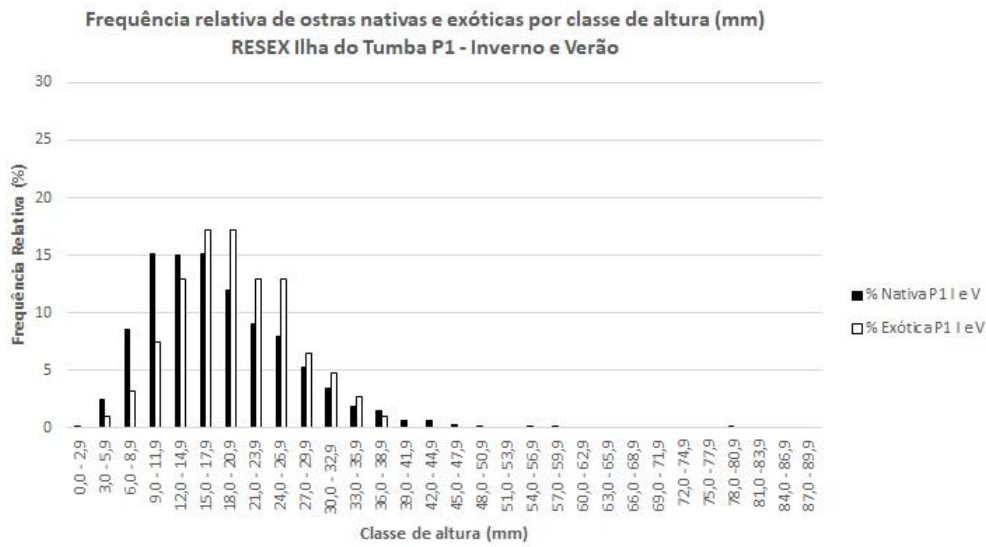
I: inverno (agosto/2019); V: verão (março/2020).



Fonte: Elaborado pelas autoras.

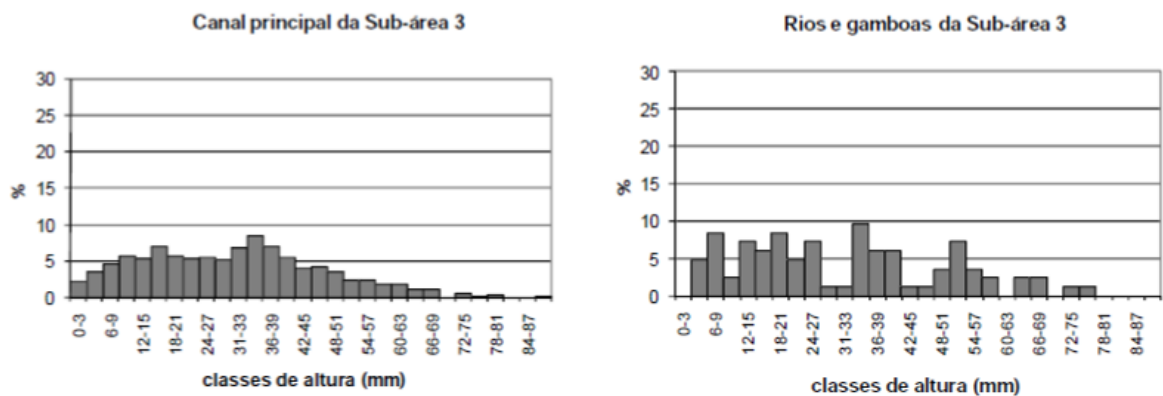
De acordo com Machado (2009), em coletas de ostras nativas realizadas em 2007, a frequência relativa por classes de altura encontrava-se melhor distribuída ao longo das classes, na mesma região, que inclui a RESEX Ilha Tumba (Gráfico 6), quando comparado aos resultados do presente estudo (Gráfico 5). Mas deve-se salientar que a metodologia de coleta de Machado (2009) foi distinta da que foi utilizada no presente estudo, uma vez que a autora cortou todos os rizóforos do mangue vermelho na área delimitada para estudo.

Gráfico 5 – Distribuição da frequência relativa por classes de altura das ostras nativas e exóticas, na RESEX Ilha do Tumba, nas parcelas P1 e P4. I: inverno (agosto/2019); V: verão (março/2020).



Fonte: Elaborado pelas autoras.

Gráfico 6 – Distribuição da frequência relativa por classes de altura das ostras nativas, na sub-área 3, que inclui a área da RESEX Ilha do Tumba.

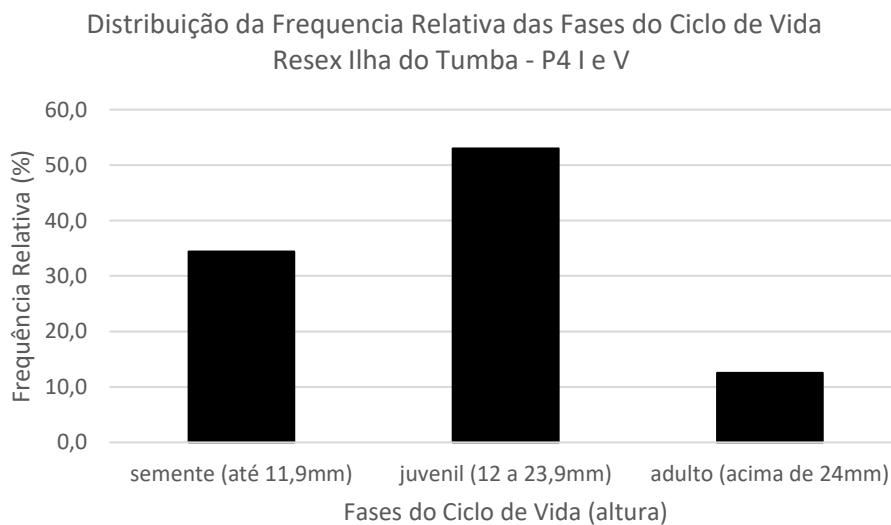
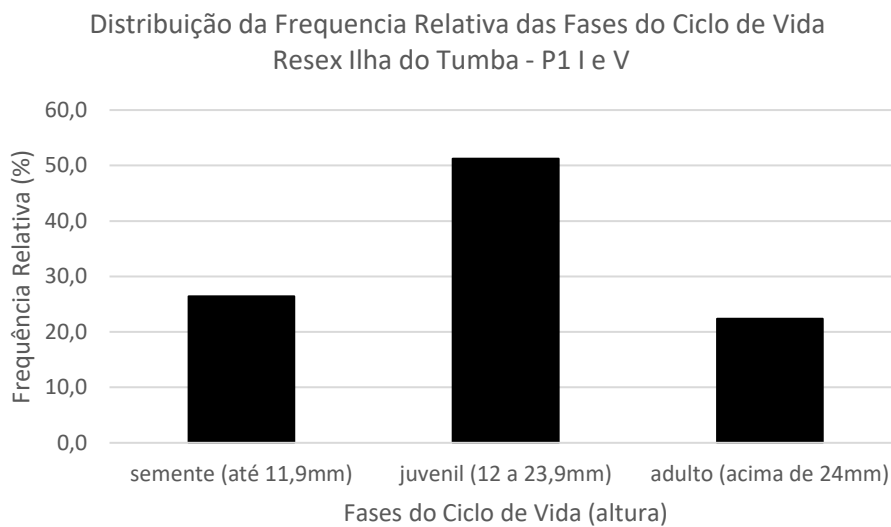


Fonte: Machado (2009).

Segundo Machado (2009), a ostra nativa do mangue *C. brasiliana* possui as seguintes fases do ciclo de vida: semente até 11mm; juvenil de 12 a 23,9 mm (ainda não reproduziram); e adulta acima de 24 mm de altura. Observa-se que no presente estudo, a fase do ciclo de vida juvenil foi o mais representado nas ostras nativas coletadas nas parcelas P1 (51%) e P4 (53%) (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Distribuição das fases de ciclo de vida, com base na frequência relativa por classes de altura das ostras nativas, na RESEX Ilha do Tumba, nas parcelas P1 e P4.

I: inverno (agosto/2019); V: verão (março/2020).



Fonte: Elaborado pelas autoras.

Implicações Ambientais e Socioeconômicas

De acordo com Gil e Cunha-Lignon (2019), *S. cucullata* não foi registrada no trecho norte do sistema costeiro, região de Iguape, provavelmente em função da baixa salinidade e da maior concentração de sedimento em suspensão nesse trecho do estuário. De acordo com Cunha-Lignon et al. (2015), o trecho norte do sistema costeiro, próximo à região do canal artificial Valo Grande (Iguape) apresenta salinidade intersticial entre 0 e 4. Segundo Prado et al. (2019), o canal artificial Valo Grande, inaugurado em 1852, configura-se como um dos maiores desastres ambientais da costa brasileira.

Por outro lado, a abertura da Nova Barra, que ocorreu ao sul do sistema costeiro em agosto de 2018, tem estabelecido novo contato do Oceano Atlântico com o canal lagunar Mar de Ararapira. O Mar de Ararapira é um corpo de águas rasas, com uma profundidade média de 4m, onde um canal principal profundo sugere intensa erosão do fundo por correntes de maré (Angulo et al., 2019). No presente estudo, os maiores valores de salinidade intersticial foram registrados na parcela P4, nas duas estações do ano (Gráfico 3). Essas alterações ambientais já estão se refletindo na grande presença de ostras exóticas encontradas nos manguezais, conforme observado no presente estudo (Tabela 4).

Ainda não se conhece todos os impactos ambientais, sociais e econômicos que essa ostra exótica poderá causar na região. Mas de acordo com Gil e Cunha-Lignon (2019), em função do aumento da população de *S. cucullata* ao longo do curto espaço temporal (2017 a 2019), dessa espécie exótica usar os rizóforos do mangue vermelho como substrato de fixação tal qual a ostra nativa *Crassostrea*, e de não apresentar interesse econômico *a priori*, estratégias de controle e redução da espécie exótica devem ser considerados.

Essa espécie de ostra exótica também foi registrada no litoral do Paraná (Amaral et al., 2020). Mapeamento inicial foi realizado em setembro de 2020 para o presente estudo (Tabela 5 e Figura 5).

Tabela 5 – Localização das ostras exóticas *S. cucullata* no litoral norte do Paraná.

Coordenada Geográfica		Ponto
Latitude	Longitude	
25°17'55.76"S	48°19'51.60"O	Ostra exótica 1
25°21'2.64"S	48°17'41.90"O	Ostra exótica 2

25°21'2.34"S	48°17'41.74"O	Ostra exótica 3
25°19'36.05"S	48°15'48.88"O	Ostra exótica 4

Fonte: Elaborado pelas autoras.

Figura 5 – Localização de ostra *S. cucullata* nas baías de Guaraqueçaba e dos Pinheiros (PR).



Fonte: Elaborado pelas autoras.

De acordo com Gil e Cunha-Lignon (2019), membros de comunidades locais tradicionais de Cananéia (SP) afirmaram que a ostra exótica é menos palatável e possui carne amarelada. Se comparada à ostra nativa *Crassostrea*, a exótica *Saccostrea* apresenta aspecto estragado, em função de sua coloração, como pode ser observado na figura 6. Dessa forma, sugere-se a realização de estudos sobre possíveis alternativas de preparo dessa espécie exótica como recurso alimentar. O consumo da ostra exótica poderá ser uma opção de manejo e controle de *S. cucullata* na região.

De modo a auxiliar na elaboração do Plano de Manejo da RESEX Ilha do Tumba, os resultados do presente estudo já foram disponibilizados para a gestão dessa UC.

Figura 6 – Quatro ostras nativas e uma exótica, em destaque.



Fonte: Elaborado pelas autoras.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A recente abertura de nova conexão com o Oceano Atlântico com o Canal de Ararapira, via Nova Barra, pode estar contribuindo com os elevados valores de salinidade intersticial nas parcelas localizadas mais ao sul na área de estudo.

No presente estudo, as ostras nativas são mais frequentes na fase juvenil. As parcelas mais ao norte da área de estudo apresentaram maiores porcentagens de ostras nativas com comprimentos permitidos para extração (60 a 100mm), de acordo com a legislação.

A importante presença de ostras exóticas na região (até 17% em algumas áreas) ressalta a necessidade urgente de monitoramento e estratégias de manejo para auxiliar na gestão desse sistema costeiro.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação Florestal, pela autorização de pesquisa na Reserva Extrativista Ilha do Tumba (Processo SMA Nº 260108 – 002.087/2018/2018), assim como pelo apoio logístico nas saídas a campo de 2019 e 2020. Agradecemos à Nathalia Peralta, gestora da RESEX Ilha do Tumba, ao Edison Nascimento, gestor do Parque Estadual da Ilha do Cardoso, à Associação de Moradores do Marujá (AMOMAR) da Ilha do Cardoso pelo apoio na organização e logística em campo.

Agradecemos aos alunos do curso de Engenharia de Pesca da UNESP, campus de Registro, Alexia Abe, Beatriz Poklikucha, Celso Vieira Junior, Jaqueline Perucello, Lucas Polonio, Marina Gil, Matheus Pedroso, Pedro Coliado, Rhauã Oliveira, Talita Freitas, Wanilton Batista, pela ajuda nas saídas a campo e em laboratório com a biometria das ostras.

REFERÊNCIAS

AMARAL, V. S.; SIMONE, L. R. L.; TÂMEGA, F. T. S.; BARBIERI, E.; CALAZANS, S. H.; COUTINHO, R.; SPOTORNO-OLIVEIRA, P. New records of the non-indigenous oyster *Saccostrea cucullata* (Bivalvia: Ostreidae) from the southeast and south Brazilian coast. **Regional Studies in Marine Science** v. 33, p. 2352-4855. 2020.

ANGULO, R. J.; SOUZA, M. C.; SIELSKI, L. H.; NOGUEIRA, R. A.; MÜLLER, M. E. J. Morphology, bedforms and bottom sediments of Mar do Ararapira, southern Brazil. **Quaternary and Environmental Geoscience**, v. 10, n. 1, p. 1-09. 2019.

CUNHA-LIGNON, M.; COELHO-JR.; C.; ALMEIDA, R.; MENGHINI, R.; CORREA, F.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRÓN-MOLERO, G.; DAHDOUH-GUEBAS, F. Mangrove Forests and Sedimentary Processes on the South Coast of São Paulo State (Brazil). **Journal of Coastal Research**, SI 56, p. 405 – 409. 2011.

CUNHA-LIGNON, M.; ALMEIDA, R.; LIMA, N. G. B.; GALVANI, E.; MENGHINI, R. P.; COELHO-JR., C.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Monitoramento de Manguezais: abordagem integrada frente às alterações ambientais. *In*: Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação, 8, Curitiba, **Anais** [...]. 2015.

CUNHA-LIGNON, M. **Cílios do Lagamar: monitoramento da vegetação ciliar nativa e invasora**. Relatório do Projeto (2017-RB-322 FEHIDRO). 2020.

DAMÁSIO NETO, J. B. **Manguezais do Município de Cananeia: mapeamento e análise espaço-temporal com uso de imagens de satélite de média e alta resoluções**. 2018. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Estadual Paulista, Registro.

FUNDAÇÃO FLORESTAL. **Plano de Utilização da Reserva Extrativista Ilha do Tumba** – Mosaico de Jacupiranga, SP. 2010.

GALVÃO, M. S. N.; ALVES, P. M. F.; HILSDORF, A. W. S. First record of the *Saccostrea* oyster in Bertioiga, São Paulo, Brazil. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 638–645. 2017.

GIL, M. P.; CUNHA-LIGNON, M. Mapeamento da distribuição da ostra exótica *Saccostrea* nos manguezais do Lagamar paulista. *In*: Congresso Brasileiro de Engenheiros de Pesca, 21, **Anais [...]**. 2019.

LAM, K.; MORTON, B. **The oysters of Hong Kong (Bivalvia: Ostreidae and Gryphaeidae)**. The Swire Institute of Marine Science, The University of Hong Kong, Cape d'Aguiar, Shek O, Hong Kong, 2004.

MACHADO, I. C. **Um retrato do extrativismo: a sustentabilidade na exploração comercial da ostra de mangue em Cananéia-SP**. 2009. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

MACHADO, I. C.; FAGUNDES, L.; HENRIQUES, M. B. A integração da pesquisa ao conhecimento ecológico local no subsídio ao manejo: variações no estoque natural da ostra de mangue *Crassostrea* spp. na reserva extrativista do Mandira, Cananeia-SP, Brasil. **Ambiente & Sociedade**. vol.14 n.1 São Paulo. 2011.

MENDONÇA, J. T. Gestão dos recursos pesqueiros no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape-Ilha Comprida, Litoral Sul de São Paulo, Brasil. 2007. 388 p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

MENDONÇA, J. T. Gestão pesqueira em unidades de conservação no litoral sul de São Paulo, Brasil. *In*: Reunião Científica do Instituto de Pesca, 10, **Anais [...]**. 2010.

PRADO, H. M.; SCHLINDWEIN, M. N.; MURRIETA, R. S. S.; NASCIMENTO JUNIOR, D. R.; SOUZA, E. P.; CUNHA-LIGNON, M.; MAHIQUES, M. M.; GIANNINI, P. C. F.; CONTENTE, R. F. The Valo Grande Channel in the Cananéia-Iguape Estuary- Lagoon Complex (SP, Brazil): environmental history, ecology, and future perspectives. **Revista Ambiente & Sociedade**, v. 22, p. 2-22. 2019.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; VALE, C. C.; CINTRON, G. Monitoramento do Ecosistema Manguezal: estrutura e características funcionais. *In*: TURRA, A.; DEDANAI, M.R. (orgs.). Protocolos de campo para o monitoramento de habitats bentônicos costeiros. Rede de Monitoramento de Habitats Bentônicos Costeiros – ReBentos. São Paulo – SP: IOUSP, 2015. cap. 4., p. 65–83.

SUDEPE. **Portaria SUDEPE N° N-40**, 16 de dezembro 1986. Superintendência do Desenvolvimento da Pesca. Determina defeso e tamanho mínimo de coleta de ostras no estado de São Paulo e Paraná. 1986.

UNEP. **The Importance of Mangroves to People: A Call to Action**. van Bochove, J., Sullivan, E.; Nakamura, T. (Eds). United Nations Environment Programme World Conservation Monitoring Centre, Cambridge. 128 pp. 2014.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA A ANÁLISE DA INTEGRIDADE DE MEMBRANA DE ESPERMATOZOIDES DE CURIMBA (*Prochilodus lineatus*)

Bárbara do Carmo Rodrigues Virote¹; Naiara Cristina Motta²; Luis David Solis Murgas³.

RESUMO

A criopreservação de sêmen de peixes é uma estratégia para preservação de recursos genéticos para programas de seleção ou conservação de espécies nativas, por isso possui benefícios não apenas para a piscicultura, mas também para a conservação e melhoramento genético dos recursos. Uma das maneiras de testar o sucesso de um protocolo de criopreservação de sêmen é a análise da integridade da membrana celular. Com o intuito de melhorar a padronização dos protocolos dessa análise, o objetivo central desse estudo foi comparar dois protocolos de análise de integridade de membrana de espermatozoides criopreservado de *Prochilodus lineatus*. O sêmen foi coletado após indução hormonal e a criopreservação ocorreu em meio de congelamento contendo glicose e metilglicol. Após o descongelamento foi realizada a análise de integridade de membrana usando dois métodos de diferentes: coloração por Eosina-Nigrosina (observada em microscopia de luz) e sondas fluorescentes SYTO9/Iodeto de Propídio. Após as análises foi demonstrado que os resultados obtidos dos dois métodos não apresentam diferença estatística ($P > 0,05$). Conclui-se que o procedimento de associação dupla SYTO9/Iodeto de Propídio possui a mesma eficiência que a coloração com Eosina-Nigrosina para a avaliação da integridade de membrana de espermatozoides em amostras descongeladas de sêmen de curimba.

Palavras-chave: Eosina-Negrosina. Sondas fluorescentes. Peixe. Criopreservação.

ABSTRAT

The cryopreservation of fish semen is a strategy for the preservation of genetic resources for programs for the selection or conservation of native species, so it has benefits not only for fish farming, but also for the conservation and genetic improvement of resources. One way to test the success of a semen cryopreservation protocol is to analyze the integrity of the cell membrane. In order to improve the standardization of the protocols for this analysis, the central objective of this study was to compare two protocols for the integrity analysis of cryopreserved sperm from *Prochilodus lineatus*. The semen was collected after hormonal induction and cryopreservation occurred in a freezing medium containing glucose and methylglycol. After thawing, the membrane integrity analysis was carried out using two different methods: Eosin-Nigrosine staining (observed under light microscopy) and SYTO9 / Propidium Iodide fluorescent probes. After the analysis, it was demonstrated that the results obtained from the two methods do not show statistical difference ($P > 0.05$). It is concluded that the double association procedure SYTO9 / Propidium Iodide has the

¹Doutoranda em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Lavras. <http://lattes.cnpq.br/8466553707499960>. barbara-crv@hotmail.com.

²Doutoranda em Zootecnia pela Universidade Federal de Lavras. <http://lattes.cnpq.br/7989876586747823>. naiara.motta.ufv@gmail.com.

³Doutor, Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras. <http://lattes.cnpq.br/9261836492596804>. ismurgas@ufla.br.

same efficiency as staining with Eosin-Nigrosine for the evaluation of sperm membrane integrity in thawed curimba semen samples.

Keywords: Eosin- Negrosin. Fluorescent probes. Fish. Cryopreservation.

INTRODUÇÃO

Dentre as espécies de peixe que realizam migração durante o período reprodutivo, se destaca o *Prochilodus lineatus* (VALENCIENNES, 1836) popularmente conhecido como curimba, nativo da América do Sul. Esse peixe de tamanho médio desempenha um papel importante no seu ecossistema, bem como na pesca de subsistência e, apresentando alta produtividade quando criado em fazendas piscícolas (MADUENHO e MARTINEZ, 2008).

Porém, o ciclo reprodutivo dessa espécie pode ser drasticamente afetado pela urbanização, poluição, desmatamento, pesca predatória, construção de barragens, mudanças nos cursos dos rios e outros fatores antrópicos (VIVEIROS et al., 2009). Uma alternativa que pode ajudar a garantir a diversidade genética e o sucesso reprodutivo das estratégias de manejo da população de peixes migratórios, como a *P. lineatus*, é a criopreservação do sêmen.

A criopreservação garante qualidade do sêmen pela seleção de material livre de doença sendo um método de segurança para o fornecimento de espermatozoides (MURGAS et al., 2007). Seu uso pode beneficiar a indústria da piscicultura em diferentes níveis, desde o gerenciamento da reprodução e seleção genética de machos com alto valor reprodutivo até o uso de amostras selecionadas de alta qualidade (CABRITA et al., 2014).

Dentre os vários benefícios da criopreservação de sêmen podemos incluir a sincronização da disponibilidade de gametas para ambos os sexos, otimização da dose inseminante, redução no número de reprodutores, transporte de gametas de diferentes pisciculturas e armazenamento de germoplasma para programas de seleção genética ou conservação de espécies (CABRITA et al., 2010).

Porém, apesar de ser um método seguro, a criopreservação do sêmen ainda não é uma prática de rotina nos programas de fertilização em peixes. Isso se dá em função de diversos fatores que limitam a utilização do sêmen criopreservado, como protocolos de criopreservação não padronizados (CABRITA et al., 2010).

Por isso, pontos de verificação de protocolos padronizados ao longo do processo de criopreservação são altamente recomendados para evitar a falta de

reprodutibilidade (BAKER, 2016) Uma avaliação da integridade da membrana, como a proporção de células intactas na membrana (também conhecida como "viabilidade celular"), em cada etapa do processo de criopreservação é um indicador aceito da qualidade do sêmen, visto que a membrana plasmática do espermatozoide é uma das principais estruturas que podem ser danificadas durante a criopreservação (SEGOVIA et al., 2000; TORRES e TIERSCH; 2016).

A membrana é uma estrutura chave responsável pela recepção de estímulos do ambiente e desencadeia respostas como ativação da motilidade, sua estrutura é altamente sensível ao estresse ambiental e as alterações podem resultar em alterações fisiológicas dos espermatozoides (CABRITA et al., 2008). Assim, a detecção de alterações iniciais na membrana espermática é de extrema importância para a avaliação da viabilidade dos espermatozoides após os procedimentos de congelamento/descongelamento. Entre as formas de avaliação da integridade da membrana plasmática dos espermatozoides, se destacam os métodos de avaliação através de coloração pelo método Eosina-Nigrosina e análise por sondas fluorescentes.

Para a técnica de sondas fluorescentes os fluorocromos mais utilizados são o iodeto de propídio (PI) e SYBR-14, que se tem obtido sucesso nos últimos 20 anos, e o protocolo geral consiste em adicionar ambas as sondas a uma suspensão de sêmen (TORRES e TIERSCH, 2016). Outras sondas fluorescentes com especificidade com ácido desoxirribonucleico (DNA) também são usadas para determinar a integridade da membrana plasmática como a sonda SYTO9 (UTESHEV et al., 2013).

O protocolo de coloração pelo método Eosina-Negrosina, consiste no corante eosina que é supravital e não penetra em células com membrana plasmática intacta, mas, quando lesadas, estas são coradas em rosa. O corante nigrosina é responsável pelo contraste mais escuro de fundo da lâmina, o qual permite a visualização dos espermatozoides não corados (ARRUDA et al., 2010). Portanto, este teste tem sido recomendado como uma avaliação adicional àquelas de rotina, como por exemplo, motilidade e vigor espermático (BRITO, 2007). Essa coloração foi descrita pela primeira vez em 1951 por Swanson e Bearden; desde então, vem sendo amplamente usada, por se tratar de uma análise de baixo custo, comparada a análise realizada com sondas fluorescentes.

Com o intuito de definir e comparar o melhor protocolo para a avaliação de integridade de membrana dos espermatozoides para otimizar o processo avaliação

da qualidade após o processo de criopreservação, o objetivo desse trabalho foi comparar os métodos de sondas fluorescentes de associação dupla SYTO9/Iodeto de Propídio e Eosina-Negrosina para a análise da integridade de membrana de sêmen de *Prochilodus lineatus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Manejo dos animais e criopreservação espermática

O experimento e manejo dos animais foram realizados em estrita conformidade com as normas internacionais de experimentação animal e todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brasil (Protocolo nº 23 / 2018).

Seis machos de *Prochilodus lineatus* com aproximadamente três anos de idade foram selecionados de peixes cultivados em tanques escavados na Estação de Piscicultura da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) na cidade de Leopoldina (21°28'34" S; 42°43'17"W), Minas Gerais, Brasil, durante o período reprodutivo 2017-2018. Os peixes foram alimentados com ração extrusada comercial (28% de proteína bruta) duas vezes ao dia ad libitum. Machos (0,375 ± 0,12 kg de peso corporal, PC) que liberaram sêmen sob leve pressão abdominal receberam uma única dose intraperitoneal de extrato de pituitária de carpa (CPE; Argent Chemical Laboratories, Redmond, EUA) a 4 mg/Kg de CPE 8 h antes da coleta de sêmen.

O sêmen de cada macho foi coletado em tubos de ensaio graduados. A amostra foi armazenada em um refrigerador contendo gelo químico (~ 6–9 ° C) por no máximo 15 min. O meio de congelamento era composto por solução de glicose a 325 mOsm / kg (pH 7,6) como diluidor e metilglicol [CH₃O(CH₂)₂OH] como agente crioprotetor. O sêmen foi diluído no meio de congelamento a uma razão de 1:8:1 (sêmen: diluidor: crioprotetor) e envasado em palhetas de 0,5 mL, seguido por um tempo de equilíbrio de 10 min em temperatura ambiente (aproximadamente 26°C). As amostras foram congeladas em um botijão de vapor de nitrogênio (Dry Vapor Vessel YDH-8, Cryofarm, Itu, Brasil) a -170°C por 24h (aproximadamente -36°C / min; Maria et al., 2006), e então transferidas para um botijão de nitrogênio líquido (BioCane 34 Thermo Fisher Scientific, Dubuque, EUA) a -196°C para armazenamento.

Análise da integridade de membrana

Para realizar as análises de integridade de membrana, uma palheta de cada macho foi individualmente descongelada em banho maria a 60°C por 8 segundos.

Método eosina-negrosina

A solução de coloração para avaliação de espermatozoides foi preparada contendo 0,67% de eosina Y (CI 45380, VWR No 115935) e 10% de nigrosina (CI 50420, VWR No 115924; VWR™ International) e então dissolvida em cloreto de sódio 1,2% em água destilada (BJÖRNDAHL et al., 2003). A solução foi levada à ebulição e foi deixada a arrefecer até à temperatura ambiente (25 ° C). Em seguida, a solução foi filtrada em papel (Munktell Filtrak™ Grade 3), armazenada em frasco de vidro escuro e fechada.

Uma aliquota de 2 µL de sêmen foi adicionada a uma lamina e em seguida 6 µL da solução de coloração foi adicionada ao sêmen, realizando em seguida o esfregão da lâmina. Foram realizadas duas lâminas por palheta descongelada e os esfregões foram secos ao ar. Pelo menos 200 células foram avaliadas em microscópio óptico (Olympus® CX22LED, Tóquio, Japão) com ampliação de 400 X. Os espermatozoides brancos (não corados) foram classificados como integros e aqueles que tinham coloração rosada foram classificados não integros. A integridade da membrana foi calculada como a porcentagem de células não coradas em relação ao total de espermatozoides, representando espermatozoides com uma membrana intacta.

Método de sondas fluorescentes

Nesta análise foram usadas como sondas fluorescentes SYTO9 (ex 483 nm/ em 503 nm, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA) e Iodeto de Propídeo – IP (ex 535nm/ em 617nm Sigma-Aldrich, Missouri, EUA) para avaliação da integridade da membrana plasmática dos espermatozoides. Em uma lâmina foi adicionado 1 µL de sêmen e 10 µL de solução contendo IP a 0,05 µg/mL e SYTO9 a 3.34 µM e após 15 min de incubação a análise foi realizada em um Microscópio de Epi-Fluorescência DM 2000 (Leica, Wetzlar, Alemanha) em aumento de 63x10x0,6 com zoom de 0,6 no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra estrutural - LME/UFLA. Foram realizadas duas lâminas por palheta descongelada.

O corante SYTO 9 é permeável à membrana, portanto, células de espermatozoides vivas com membranas celulares intactas podem fluorescer verde de

SYTO 9, enquanto as células com membranas celulares danificadas fluoresce vermelho de IP. Foram avaliados 200 espermatozoides/amostra e as taxas foram expressas através do percentual entre espermatozoides íntegros sobre o total de células avaliadas.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (SD). A análise de variância (ANOVA) foi realizada com o programa de software R versão 3.3.2.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A qualidade da integridade de membrana dos espermatozoides de *P. lineatus* logo após o descongelamento apresentaram boas taxas demonstrando a qualidade da solução de criopreservação, contendo glicose como diluidor e metilglicol como crioprotetor. Da mesma forma, o sêmen de *P. lineatus* descongelado apresentou taxas de integridade de membrana de 48-60% utilizando o método de coloração Eosina-Nigrosina (Viveiros et al., 2016).

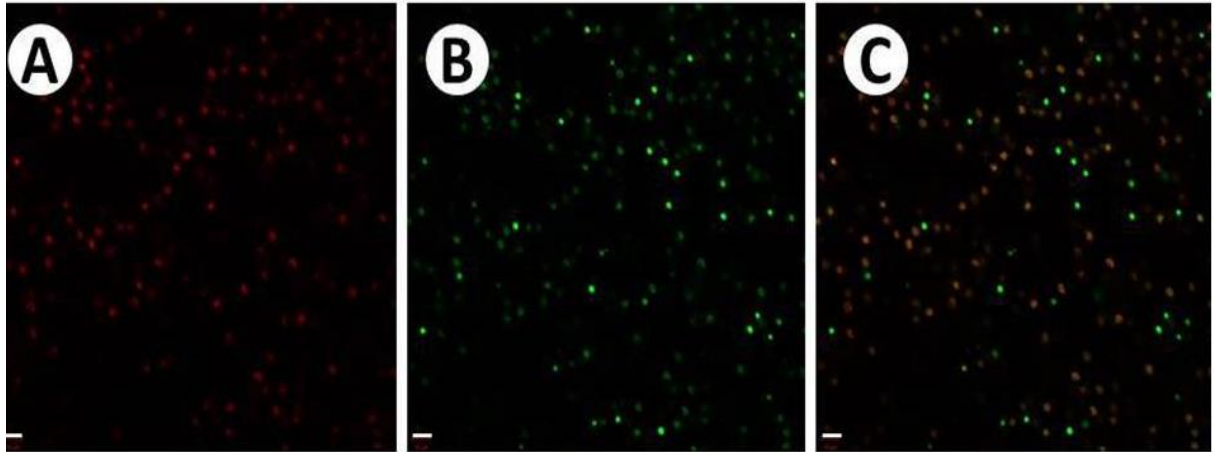
Não houve diferença estatística entre os métodos de sondas fluorescentes (Figuras 1) e Eosina-Nigrosina (Figura 2) utilizados para a avaliação da integridade de membrana dos espermatozoides (Tabela 1).

Tabela 1: Percentual da integridade de membrana após descongelamento de espermatozoides de *Prochilodus lineatus* avaliada sonda fluorescentes ou coloração Eosina-Nigrosina

	Integridade de Membrana (%)		Min- 45- 64,5-
	Média \pm SD	Max	
IP/SAYTO 9	63,2 \pm 15,2	78	
EOSINA- NIGROSINA	73,3 \pm 9,4	86	

Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 1: Espermatozoides criopreservados da espécie *Prochilodus lineatus*. Positivos para IP fluorescem em vermelho e são considerados não íntegros (A). Positivos para SYTO 9 fluorescem em verde e são considerados íntegros (B). Junção das imagens com as duas fluorescências (C). Escala de 10 μ m.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 2: Análise de integridade de membrana pelo método de coloração Eosina-Nigrosina de espermatozoides de *Prochilodus lineatus* após o descongelamento. Setas brancas indicam espermatozoides com membrana íntegra e setas pretas indicam espermatozoides com membrana não-integras.



Fonte: Arquivo pessoal.

O sêmen criopreservado de espécies de peixes ainda não é amplamente utilizado em grandes escalas porque a viabilidade pós-descongelamento e a fertilidade dos espermatozoides criopreservados são reduzidas drasticamente como consequência do acúmulo de danos celulares (JUN et al., 2006). A partir disso, nos últimos anos diversos estudos se dedicaram a melhorar os protocolos de criopreservação de sêmen para otimizar os protocolos de criopreservação de peixes

(CHEN et al., 2004). Sendo a avaliação da integridade da membrana fundamental para avaliar o manuseio do esperma e os protocolos de criopreservação (He e Woods, 2004; JENKINS et al., 2011; TORRES e TIERSCH, 2016).

A criopreservação pode alterar as estruturas celulares e a fisiologia dos espermatozoides. Não há um protocolo definido para estimar a qualidade do sêmen de espécies aquáticas, especialmente em comparação com os disponíveis para humanos e bovinos (CUEVAS-URIBE et al., 2015). A qualidade do sêmen de peixes criopreservado é frequentemente estimada pela motilidade após o descongelamento, mas isso nem sempre está correlacionado com a fertilização (HE e WOODS, 2004). Danos induzidos pela criopreservação podem ocorrer em estruturas específicas que não seriam detectáveis pelo estudo de um único ensaio, como modificações na integridade da membrana celular (TIERSCH, 2011).

Uma das maneiras de testar o sucesso de um protocolo de criopreservação de espermatozoides é a análise da integridade da membrana celular (JENKINS, 2011). A membrana celular é composta por uma fina bicamada de lipídios anfipáticos que separa e protege a célula do ambiente extracelular, sendo também responsável pelo controle do que entra e sai da célula, principalmente pelo controle de proteínas transmembrana (CABRITA et al., 2010). A integridade da membrana plasmática é uma necessidade primária para a sobrevivência celular, e vários testes foram desenvolvidos para avaliar a viabilidade dos espermatozoides criopreservados.

Uma das principais causas para uma perda significativa da integridade da membrana dos espermatozoides pós-descongelamento entre as populações de peixes criadas em fazendas ou em campos de pesquisa são ações indevidas de crioprotetores não adequados para a espécie (YANG et al., 2016).

Os primeiros ensaios desenvolvidos estimaram espermatozoides viáveis com corantes como o azul de tripano (LUBZENS et al., 1997), eosina (LAHNSTEINER et al., 1996) e Hoescht 33258 (CABRITA et al., 1998), que só entram na célula através de membranas alteradas. Mais recentemente, o uso de coloração fluorescente dupla SYBR-14 e iodeto de propídio em conjunto com citometria de fluxo, permitiu uma avaliação mais rápida e precisa da integridade da membrana plasmática (HORVÁTH et al., 2008).

Atualmente, as duas técnicas mais utilizadas para analisar a integridade de membrana de espermatozoides são pelas sondas fluorescentes e pelo método de coloração diferencial, Eosina-Nigrosina. Como no trabalho apresentado por Figueroa

(2019), utilizando carboxifluoresceína e iodeto de propídio em espermatozoides de *Prochilodus lineatus*. E em outros trabalhos que utilizaram o método de coloração diferencial Eosina-Nigrosina em demonstraram uma viabilidade de integridade de membrana de $96,95 \pm 1,22\%$ para a espécie *Brycon cephalus* (SANABRIA, 2012); de 91,21% para *Brycon insignis* (ANDRADE-TALMELLI et al., 2011) e 93,73% para espermatozoides de *Prochilodus scrofa* (KAVAMOTO, 2013).

Essa análise demonstra ser de extrema importância pois durante o processo de congelamento, a temperatura a que o sêmen é exposto altera drasticamente, variando da temperatura da água do tanque onde os peixes se encontravam em torno de 26°C até a temperatura de congelamento de -196°C.

Os maiores danos ao espermatozoide ocorrem em dois momentos distintos da criopreservação, primeiro é na temperatura de 5°C, quando a membrana plasmática transita do estado líquido cristalino para o estado de gel (GRAHAM, 1996); e entre -5 e -15°C, quando ocorre a formação de cristais de gelo no meio externo (cristalização).

A formação desses cristais é deletéria porque parte da água do meio extracelular será utilizada para formá-los, e a desidratação resultante tornará o meio progressivamente mais concentrado (hiperosmótico) em relação ao espermatozoide. Na tentativa de equilibrar os meios, haverá um efluxo de água do meio intracelular das células e, a partir desse momento, os eventos que ocorrerão serão determinados pela velocidade do congelamento. Quando o congelamento é suficientemente lento, a célula perde água rapidamente, desidrata e encolhe (MARIA; AZEVEDO; CARNEIRO, 2011; SOARES; GUERRA, 2009).

De maneira contrária, se ocorre um congelamento muito rápido das células, elas tornam-se incapazes de perder água rapidamente para manter o equilíbrio entre os meios. Com isso, a água se torna super-resfriada e posteriormente congela, levando à formação de cristais de gelo intracelulares que, com o descongelamento, poderão se recrystalizar em cristais maiores, causar danos mecânicos às células, e conseqüentemente, torna-las inviáveis (PEGG, 2007).

Conclui-se, portanto, que a curva ótima de congelamento deverá ser lenta o suficiente para permitir a desidratação dos espermatozoides e prevenir a formação de gelo intracelular, e rápida o suficiente para que o tempo de exposição dos espermatozoides ao soluto não seja muito elevado (SALMITO-VANDERLEY et al., 2012; SILVA; GUERRA, 2011). Para que haja sucesso, então, as taxas de resfriamento devem situar-se entre -10 e -50°C/min, resultado assegurado com a

utilização de botijões do tipo dry-shipper, que contém exclusivamente vapor de nitrogênio líquido (HARVEY; CAROLSFELD, 1993).

Outro ponto importante a ser ressaltado, para proteger a integridade da membrana durante o processo de congelamento/ descongelamento é conhecer qual o melhor crioprotetor intracelular para a espécie. Como demonstrado por Viveiros et al., (2015) o metilglicol demonstra ser ter uma eficiente proteção funcional e estrutural para a célula durante o processo de criopreservação para a espécie *Prochilodus lineatus*.

Isso demonstra que para ter a real comprovação do sucesso do congelamento/ descongelamento do sêmen, principalmente respeitando a curva ótima de congelamento e as soluções crioprotetoras adequadas, a avaliação da integridade de membrana demonstra ser imprescindível. E esse trabalho possui grande importância por demonstrar que a sonda SYTO 9 possui grande eficácia para coloração de espermatozoide em peixes, pois até o momento o corante era usado principalmente em trabalhos com bactérias como no trabalho realizado por Gião et al. (2009) em que utilizaram o SYTO 9 para uma coloração de uma bactéria Gram - negativa chamada *Legionella pneumophila* que pode causar a doença dos Legionários (pneumonia com alta taxa de mortalidade) ou febre de Pontiac (uma doença leve não neuromica). Nossos resultados demonstram que a sonda SYTO9 possui eficácia semelhante das outras sondas utilizadas atualmente principalmente comparado a outra técnica consolidada que é a técnica de Eosina-Negrosina.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A criopreservação de espermatozoides de sêmen de peixe é uma tecnologia de perspectiva para a preservação de germoplasma a longo prazo, incluindo espécies raras e ameaçadas de extinção. Problemas práticos na metodologia para esse procedimento devem ser evitados para um melhor sucesso para a criação de bancos genéticos.

A partir desse ponto de vista, este estudo é interessante por demonstrar que as técnicas de sondas fluorescentes e coloração de Eosina-Nigrosina não apresentaram diferenças estatísticas, indicando que ambas podem ser utilizadas para analisar viabilidade celular espermática em ensaios de criopreservação de sêmen de peixe da espécie *Prochilodus lineatus*.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pela Rede Mineira de Bioterismo - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), sob o número RED 00009-14; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) sob nº 308359 / 2019-4, e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), sob nº 88881.117641 / 2016-01.

Os autores agradecem também à agência brasileira Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) -UFLA

REFERÊNCIAS

ANDRADE-TALMELLI, Elaine; KAVAMOTO, Emito; FENERICH-VERANI, Nelsy. Características seminais da Piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876), após estimulação hormonal. **B. Inst. Pesca**, v. 27, n 2, p. 149-154, 2011.

ARRUDA, R. L. et al. Técnicas para avaliação laboratorial da integridade estrutural e funcional do sêmen congelado de touros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 3, p. 168-184, 2010.

BAKER, Monya. How quality control could save your science. **Nature News**, v. 529, n. 7587, p. 456, 2016.

BUTTS, I. A. E. et al. Semen characteristics and their ability to predict sperm cryopreservation potential of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. **Theriogenology**, v. 75, n. 7, p. 1290-1300, 2011.

BJÖRNDAHL, L.; SÖDERLUND, I.; KVIST, U. Evaluation of the one-step eosin-nigrosin staining technique for human sperm vitality assessment. **Human reproduction**, v. 18, n. 4, p. 813-816, 2003.

BRITO, Leonardo. Evaluation of stallion sperm morphology. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 6, n. 4, p. 249-264, 2007.

CABRITA, E. et al. Sublethal damage during cryopreservation of rainbow trout sperm. **Cryobiology**, v. 37, n. 3, p. 245-253, 1998.

CABRITA, E.; ROBLES, V.; HERRAÉZ, P. Sperm quality assessment. **Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species**, p. 93–147, 2008.

CABRITA, E. et al. Cryopreservation of fish sperm: applications and perspectives. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 26, n. 5, p. 623-635, 2010.

CABRITA, E. et al. Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. **Aquaculture**, v. 432, p. 389-401, 2014.

CUEVAS-URIBE, R. et al. Vitrification of sperm from marine fish: effect on motility and membrane integrity. **Aquaculture research**, v. 46, n. 7, p. 1770-1784, 2015.

FELIZARDO, V. et al. Effect of cryopreservant combinations on the motility and morphology of curimba (*Prochilodus lineatus*) sperm. **Animal reproduction science**, v. 122, n. 3-4, p. 259-263, 2010.

FIGUEROA, E. et al. Effects of cryopreservation on mitochondrial function and sperm quality in fish. **Aquaculture**, v. 511, p. 634190, 2019.

GIÃO, S. et al. Validation of SYTO 9/propidium iodide uptake for rapid detection of viable but noncultivable *Legionella pneumophila*. **Microbial ecology**, v. 58, n. 1, p. 56, 2009.

GODINHO, Hugo Pereira; GODINHO, Alexandre Lima. Ecology and conservation of fish in southeastern Brazilian river basins submitted to hydroelectric impoundments. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 5, n. 1, p. 187-197, 1994.

GRAHAM, J. K. Cryopreservation of Stallion Spermatozoa. **Veterinary Clinics Of North America: Equine Practice**, v. 12, n. 1, p.131-147, 1996.

HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. Preservation of sperm. In: HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. (Eds.) Induced breeding in tropical fish culture. **International Development Research Center**, p. 119-130, 1993.

HE, Shuyang; WOODS III, L. Curry. Changes in motility, ultrastructure, and fertilization capacity of striped bass *Morone saxatilis* spermatozoa following cryopreservation. **Aquaculture**, v. 236, n. 1-4, p. 677-686, 2004.

HORVÁTH, A. et al. Viability and fertilizing capacity of cryopreserved sperm from three North American acipenseriform species: a retrospective study. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 24, n. 4, p. 443-449, 2008.

JENKINS, Jill. Infectious disease and quality assurance considerations for the transfer of cryopreserved fish gametes. 2011.

JUN, Li; QINGHUA, Liu; SHICUI, Zhang. Evaluation of the damage in fish spermatozoa cryopreservation. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 24, n. 4, p. 370-377, 2006.

KAVAMOTO, E.T. **Efeito da ação hormonal sobre as características seminais do curimatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária e Zootecnia) – Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo – SP 101p., 2013.

LAHNSTEINER, F. et al. The influence of various cryoprotectants on semen quality of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) before and after cryopreservation. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 12, n. 2, p. 99-106, 1996.

LUBZENS, E. et al. Carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa cryobanks—strategies in research and application. **Aquaculture**, v. 155, n. 1-4, p. 13-30, 1997.

MADUENHO, L. P.; MARTINEZ, C. B. R. Acute effects of diflubenzuron on the freshwater fish *P. lineatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 148, n. 3, p. 265-272, 2008.

MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; CARNEIRO, P. C. F. Protocolo para criopreservação do sêmen de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2011.

MURGAS, L. D. S.; MILIORINI, A. B.; FREITAS, R. T. F.; PEREIRA, G. J. M. Criopreservação do sêmen de curimba (*Prochilodus lineatus*) mediante adição de diferentes diluidores, ativadores e crioprotetores. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, p. 526-531, 2007.

PEGG, D. E. Principles of Cryopreservation. In: DAY, J. G.; STACEY, G. N. (Eds.). Cryopreservation and Freeze-drying Protocols, **Totowa: Humana Press**, p. 39-57, 2007.

SALMITO-VANDERLEY, C. S. B. et al. Meios de congelamento para conservação de sêmen de peixes da família Characidae. **Ciência Animal**, Goiânia, v. 22, n.1, p. 687-690, 2012.

SANABRIA, A.I. **Efeito da restrição alimentar no desempenho reprodutivo de machos de matrinxã, *Brycon cephalus***. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura – Jaboticabal – SP 60 p., 2012.

SEGOVIA, M. et al. Flow cytometric evaluation of antibiotic effects on viability and mitochondrial function of refrigerated spermatozoa of Nile tilapia. **Theriogenology**, v. 53, n. 7, p. 1489-1499, 2000.

SILVA, S. V.; GUERRA, M. M. P. Efeitos da criopreservação sobre as células espermáticas e alternativas para redução das crioinjúrias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 35, n. 4, p. 370-384, 2011.

SOARES, A. T.; GUERRA, M. M. P. Efeitos da criopreservação sobre a viabilidade espermática. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 3, n. 2, p. 53-63, 2009.

TIERSCH, Terrence. Process pathways for cryopreservation research, application and commercialization. **Cryopreservation in aquatic species**, v. 2, p. 646-671, 2011.

TORRES, Leticia; TIERSCH, Terrence. Amine reactive dyes: an alternative to estimate membrane integrity in fish sperm cells. **Aquaculture**, v. 463, p. 71-78, 2016.

UTESHEV, V. et al. Collection and cryopreservation of hormonally induced sperm of pool frog (*Pelophylax lessonae*). **Russ. J. Herpetol**, v. 20, n. 2, p. 105-109, 2013.

VIVEIROS, A. T.; ORFÃO, L. H.; MARIA, A. N.; ALLAMAN, I. B. A simple, inexpensive and successful freezing method for curimba *Prochilodus lineatus* (Characiformes) semen. **Animal Reproduction Science**, v. 112, n. 3/4, p. 293-300, 2009.

VIVEIROS, A. et al. Storage and transportation of *Prochilodus lineatus* (Characiformes) sperm prior to cryopreservation. **General and comparative endocrinology**, v. 245, p. 84-88, 2017.

YANG, H. et al. A procedure-spanning analysis of plasma membrane integrity for assessment of cell viability in sperm cryopreservation of zebrafish *Danio rerio*. **Zebrafish**, v. 13, n. 2, p. 144-151, 2016.

CRESCIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE SEMENTES DE VIEIRAS *Nodipecten nodosus* (LINNAEUS, 1758), NO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

Breno Ribeiro da Silva¹; Sérgio de Almeida Piconi²; Lucas Areias Bassul³;
Douglas da Cruz Mattos⁴; Leonardo Demier Cardoso⁵; André Batista de Souza⁶;
Marcelo Fanttini Polese⁷; Lucas Eduardo Comassetto⁸; Thiago Bernardo de Souza⁹;
Adriano Teixeira de Oliveira¹⁰; Paulo Henrique Rocha Aride¹¹; Henrique David
Lavander¹².

RESUMO

A maricultura visa obtenção de proteína animal equilibrando a demanda de produtos oriundos da pesca. A produção de moluscos bivalves da família Pectinidae tem destaque no cenário mundial, por apresentar alto valor comercial e nutricional, com menores custos de produção e rápido retorno de capital. No presente estudo, foram avaliados o crescimento e a sobrevivência da vieira *Nodipecten nodosus* em diferentes densidades de estocagem. Foram adquiridas 5.400 sementes de um laboratório comercial, com $11,5 \pm 2,45$ mm de comprimento, aclimatadas por 25 dias, em parceria com a Associação dos Maricultores de Piúma – ES ($20^{\circ}51'18.37''S$ - $40^{\circ}43'45.42''O$). A espécie foi cultivada em longline de 100 metros, em nove lanternas berçários pearl-net, com três andares cada (área de $0,12$ m²). O delineamento experimental foi randômico, distribuídos em três densidades de estocagem 100, 200 e 300 vieiras por andar em cada lanterna, com três repetições cada tratamento. Foram realizadas biometrias a cada 60 dias (setembro e novembro de 2017, janeiro de 2018), mensurados a temperatura e salinidade do local e realizado limpeza das malhas para

¹ Estudante de Engenharia de Pesca no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (IFES) - Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/1872939533176691>. Breno_ribeiro4@hotmail.com.

² Engenheiro de Pesca pelo IFES – Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/2091284596798718>. Sergiopiconi6@hotmail.com.

³ Estudante de Engenharia de Pesca no IFES – Campus Piúma. Servidor Técnico em Aquicultura do IFES – Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/5123799795526882>. Lucas.bassul@ifes.edu.br.

⁴ Doutor em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). <http://lattes.cnpq.br/0840854277486506>. Douglas.uenf@yahoo.com.br.

⁵ Doutor em Ciência Animal pela UENF. Professores do IFES – Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/6479193676524494>. Leonardo.cardoso@ifes.edu.br.

⁶ Doutor em Ciência Animal pela UENF. Professores do IFES – Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/9587285751429073>. Andre.souza@ifes.edu.br.

⁷ Doutor em Ciência Animal pela UENF. Professores do IFES – Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/6014968694498143>. mpolese@ifes.edu.br.

⁸ Mestre em Recursos Pesqueiros pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Roraima (IFRR) - Campus Amajari. <http://lattes.cnpq.br/8940271441311108>. Lucas.comassetto@ifrr.edu.br.

⁹ Mestre em Ecologia pela Universidade Vila Velha (UVV). Professor do IFES - Campus Alegre. <http://lattes.cnpq.br/0476168686103695>. Tbernardo@ifes.edu.br.

¹⁰ Doutor em Biologia de Água Doce e Pesca Interior. Professores do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM) - Campus Manaus Centro. <http://lattes.cnpq.br/9164471794674935>. Adriano.oliveira@ifam.edu.br.

¹¹ Doutor em Biologia de Água Doce e Pesca Interior. Professores do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM) - Campus Manaus Centro. <http://lattes.cnpq.br/9087696929404160>. Aride@ifam.edu.br.

¹² Doutor em Recursos Pesqueiros e Aquicultura pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Professor do IFES - Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/5456683616099165>. Henrique.lavander@ifes.edu.br.

evitar a colmatação das lanternas durante todo período experimental (150 dias). Foi realizada ANOVA seguido do teste de Tukey para comparação das médias, ($p > 0,05$). O maior crescimento foi observado na menor densidade, com diferença estatística significativa entre as outras densidades. O mesmo foi observado para a sobrevivência, onde os valores foram superiores a 89%. A salinidade média do local de cultivo durante o período experimental foi de $32,7 \pm 1,35$ ‰ e a temperatura média da água foi de $24,2 \pm 1,58$ °C. As águas do litoral sul do Espírito Santo demonstraram condições ambientais favoráveis à espécie durante a fase berçário. Mesmo diante dos resultados obtidos, a densidade intermediária, não deverá ser descartada, podendo ser utilizada como alternativa para uma maior produtividade durante esta fase.

Palavras-chave: Pectinidae. Densidade. Sobrevivência. Maricultura.

ABSTRACT

Mariculture aims to obtain animal protein by balancing the demand for products from fisheries. The production of bivalve molluscs from Pectinidae family is highlighted on the world stage, as it has high commercial and nutritional value, with lower production costs and a quick return on capital. The aim of this study was determined the growth and survival of the scallop *Nodipecten nodosus* at different stocking densities were evaluated. 5,400 seeds were purchased from a commercial laboratory, 11.5 ± 2.45 mm long, acclimatized for 25 days, in partnership with the Marine Farmers Association of Piúma - ES ($20^\circ 51'18.37''$ S - $40^\circ 43' 45.42''$ O). The species was grown on a 100-meter longline, in nine pearl-net nursery lanterns, with three floors each (area of 0.12 m²). The experimental design was random, distributed in three stocking densities 100, 200 and 300 scallops per floor in each lantern, with three replicates each treatment. Biometrics were carried out every 60 days (September and November 2017, January 2018), the temperature and salinity of the site were measured and the meshes were cleaned to prevent the lanterns from clogging during the entire experimental period (150 days). ANOVA was performed followed by the Tukey test to compare the means, ($p > 0.05$). The greatest growth was observed in the lowest density, with a statistically significant difference between the other densities. The same was observed for survival, where the values were greater than 89%. The average salinity of the cultivation site during the experimental period was 32.7 ± 1.35 ‰ and the average water temperature was 24.2 ± 1.58 °C. The waters of the southern coast of Espírito Santo showed favorable environmental conditions for the species during the nursery phase. Even in view of the results obtained, the intermediate density should not be discarded and can be used as an alternative for greater productivity during this phase.

Key words: Pectinidae, Density, Survival, Mariculture.

INTRODUÇÃO

O cultivo de moluscos, denominado malacocultura é uma das ramificações da aquicultura que apresenta um crescimento considerável nos últimos anos. No ano de 2014 foram produzidas 15,7 milhões de toneladas, em 2016 saltou para mais de 16,8 milhões de toneladas, no ano de 2018 houve um crescimento superior a 670 toneladas, sendo produzido mais de 17,5 milhões de toneladas. Dentre o grupo dos moluscos destaca-se a família Pectinidae, por vir apresentando crescimento ao longo

dos últimos anos, tendo acumulado aproximadamente 41% de crescimento entre 2012 a 2018. A maior parte desta produção ainda está concentrada na Ásia, onde a China é o maior produtor mundial (FAO, 2020).

O Brasil apresenta grande potencial para malacocultura, sendo a maior área litorânea com clima tropical e subtropical do mundo. Assim, o país se destaca como uma das maiores áreas cultiváveis do mundo (BRASIL, 2017). A produção de moluscos bivalves apresenta uma grande vantagem em relação às outras atividades aquícolas pois não necessita de oferta de alimento exógeno (ração), já que estes organismos são filtradores (GOSLING, 2015; SOUZA *et al.* 2019). Tal característica é economicamente interessante visto que sistemas de cultivo aquícola apresentam a maior parte do seu custo relacionado à ração (SCHULTER & VIEIRA FILHO, 2017).

Dentre as espécies de moluscos bivalves as vieiras apresentam o maior valor comercial (RUPP & PARSONS, 2016; MARQUES *et al.* 2018). A vieira *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) é uma espécie nativa brasileira que sofreu elevada pressão de pesca nas décadas de 70 e 80 (PEZZUTO & BORZONE, 1997). Atualmente, a principal forma de obtenção comercial de vieiras se dá por sistemas aquícolas. Assim, a expansão de áreas produtivas, que demandam por águas não poluídas para os sistemas de cultivo de bivalves, contribuem para o aumento do processo de conscientização ambiental nas comunidades costeiras, bem como para o desenvolvimento de ações que visam a melhoria da qualidade da água do mar e a gestão adequada da zona costeira (RUPP & PARSONS, 2006; ABELIN *et al.* 2016).

Para implementação de novos sistemas de cultivo de vieiras é necessário à produção de sementes em laboratório para abastecer esta demanda. Neste caso é imprescindível que estas sejam de excelente qualidade, com grande variabilidade genética. Desta maneira são necessários estudos sobre melhoramento genético, para que desta forma alcancem rápido crescimento, boa sobrevivência, resistência a patógenos e conseqüentemente aumente a produção total (KRAUSE & BRANDSKOPNIK, 2016). Mediante esta premissa, diversos autores relatam a importância da avaliação do crescimento e sobrevivência em diferentes densidades (BUENO *et al.* 2010; CARRARO *et al.* 2012; FERREIRA *et al.* 2017).

Os principais estados produtores de vieiras no Brasil atualmente são Santa Catarina e Rio de Janeiro. No estado de Santa Catarina, em 2016 foram comercializadas aproximadamente 27 toneladas de vieiras (SANTOS *et al.* 2017). No ano de 2017 este valor aumentou para 114 toneladas. Neste estado as vieiras são

comercializadas a um preço médio de R\$ 47,50 a dúzia, o que resultou em uma estimativa econômica no ano de 2017 de R\$ 5,6 milhões (SANTOS & DELLA GIUSTINA, 2018). No estado do Rio de Janeiro no ano de 2013 foram comercializadas mais de 21 mil dúzias de vieiras, 31 mil dúzias em 2014 e 36 mil dúzias em 2015 (FIPERJ, 2015). De acordo com o Inea (2015) o preço médio de venda atinge cerca de R\$ 60 a dúzia, desta forma contabilizando-se a produção total do ano de 2015 estima-se uma receita gerada pela atividade de aproximadamente R\$ 2,2 milhões neste ano.

As densidades de cultivo quando não são adequadas para espécie, assim como suas condições de manutenção e manejo, podem gerar mortalidade ou crescimento lento, devido à competição por espaço e alimento. Rupp (2007) ao avaliar a influência de diferentes densidades no cultivo de vieiras *N. nodosus* realizado em Santa Catarina, relatou redução significativa no crescimento das vieiras em densidades superiores a 40% da área de cobertura da lanterna.

Diante da necessidade de estudos que forneçam dados relativos ao desenvolvimento da espécie *Nodipecten nodosus* em diferentes densidades, bem como pelo fato de ser escasso tais informações no estado do Espírito Santo, o presente trabalho foi pensado. A presente pesquisa propôs avaliar a influência de três diferentes densidades, com três repetições cada, sobre o crescimento e a sobrevivência de sementes de vieiras *N. nodosus* em cultivo no litoral sul do Espírito Santo, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes de vieiras *N. nodosus* foram adquiridas no laboratório do Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía da Ilha Grande (IED-BIG / RJ). O experimento foi realizado em sistema de cultivo suspenso, longline de 100 metros com flutuadores de 20 litros, fixados por âncoras de 60 quilos em suas extremidades. O experimento foi realizado em área abrigada com profundidade média de 4,5 metros, próximo à Ilha dos Cabritos, local este historicamente utilizado pela Associação dos Maricultores de Piúma (AMPI) (20°51'18.37"S - 40°43'45.42" O). O experimento foi desenvolvido entre os meses de setembro de 2017 a janeiro de 2018, totalizando 150 dias, com amostragens e biometrias a cada dois meses.

Após a chegada das sementes de vieiras estas foram mantidas por 25 dias no mar sob observação para aclimação. Após este período, as sementes apresentavam

um comprimento médio de 18,65 mm ($\pm 0,57$), no início de setembro de 2017. No total foram utilizadas 5.400 sementes, distribuídas em nove lanternas berçários pearl-net com malha de quatro mm e três andares cada. O formato piramidal das unidades experimentais apresentava fundo retangular com área de 0,12m².

No experimento foram avaliadas três diferentes densidades (tratamentos), com três repetições cada, a partir do delineamento randomizado, comparando as densidades de 100, 200 e 300 vieiras por andar (3x3). Foram realizadas visitas periódicas para realização do manejo do longline e limpeza das lanternas (retirada de incrustações, troca de flutuadores danificados). Concomitantemente foram realizadas as determinações dos parâmetros de salinidade e temperatura. Estes parâmetros foram coletados em três diferentes pontos no cultivo com auxílio de refratômetro manual e termômetro digital.

A cada 60 dias foram realizados morfometrias das vieiras, com o uso de paquímetro de precisão 0,08mm. Utilizando aleatoriamente 30 indivíduos por andar, 270 por densidade, num total de 810 vieiras amostradas a cada biometria. A altura da concha, eixo dorsoventral (DV) e comprimento da concha, eixo anteroposterior (AP) (DORE, 1991).

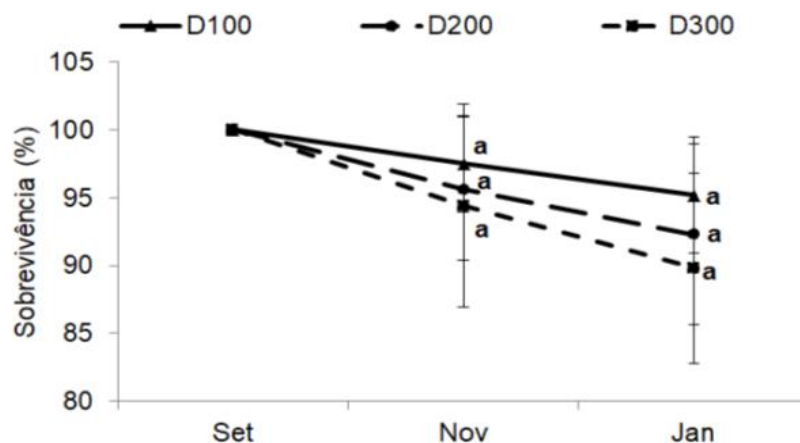
A sobrevivência foi estabelecida por meio da identificação visual das conchas e contagem do número de vieiras. A taxa de crescimento específico (TCE) expressa em (% dia⁻¹ ou mês⁻¹) foi calculada com base nos resultados da última biometria do experimento, através da fórmula: $TCE = 100 * (\ln C2 - \ln C1) / t$, onde C1, C2 representam os comprimentos no início e fim do experimento em um determinado tempo (t,) (ARIDE *et al.* 2007; LIMA *et al.* 2018). Durante o período experimental foram monitorados os valores médios das precipitações através de dados obtidos no Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – Incaper de Piúma, na estação mais próxima da área em estudo, localizada em Iriri, Anchieta – ES. Os dados da temperatura superficial do mar (TSM) foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2017 & 2018).

Após a coleta dos dados, foram realizadas análises estatísticas para avaliação do crescimento e sobrevivência, com auxílio do programa Statistica 7. Após o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,01$) foi realizada Análise de Variância (ANOVA) e o teste de Tukey para comparação de médias com significância ($p > 0,05$).

RESULTADOS

A sobrevivência após 150 dias de período experimental variou de 89,8% na densidade de 300 vieiras a 95,2% na densidade de 100 vieiras por andar. A densidade 200 apresentou 92,3% de sobrevivência nesta fase. As densidades não apresentaram diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), durante o período de setembro a janeiro (figura 1).

Figura 1 – Sobrevivência média e desvio padrão das vieiras cultivadas no litoral do Espírito Santo.

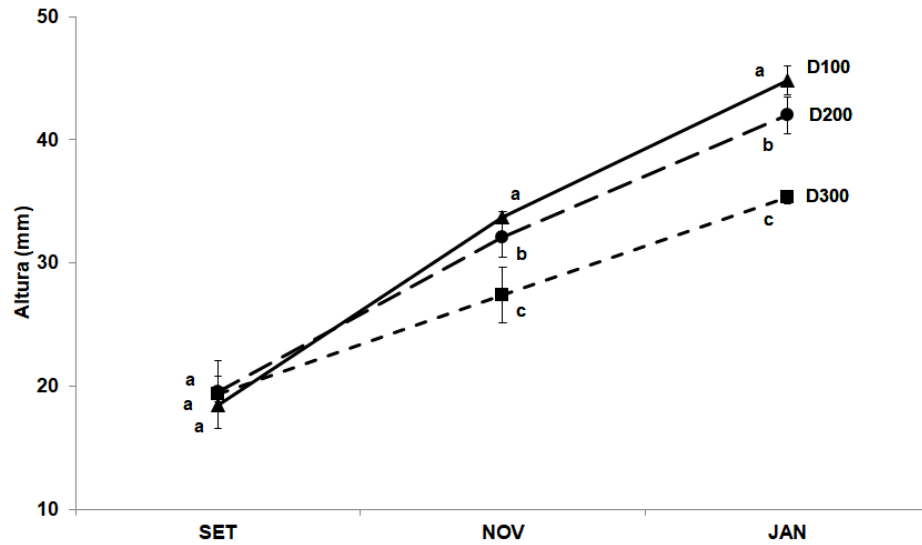


Obs.: D100 = densidade de 100 indivíduos por andar; D200 = densidade de 200 indivíduos por andar e D300 = densidade de 300 indivíduos por andar.

O crescimento em altura da concha, eixo dorsoventral (DV) diferiu significativamente entre as densidades estudadas a partir do terceiro mês de cultivo, novembro ($p \leq 0,05$). A densidade de 100 vieiras por andar alcançou 45,39 mm ($\pm 0,65$) ao final, seguido pela densidade de 200 vieiras por andar com altura média de 41,84 mm ($\pm 1,68$). Já a maior densidade, 300 vieiras por andar, obteve o menor valor para altura da concha, apenas 35,33 mm ($\pm 2,34$) (figura 2).

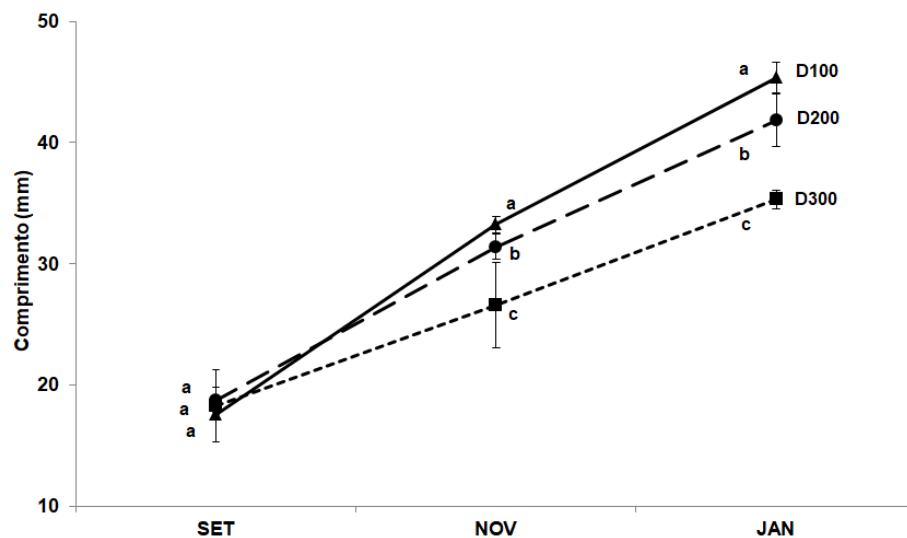
O mesmo foi observado para o comprimento da concha, eixo anteroposterior (AP), a densidade de 100 vieiras por andar alcançou 44,8 mm ($\pm 0,83$) no quinto mês, em janeiro. As densidades com 200 e 300 vieiras por andar apresentaram comprimento médio de 42 mm ($\pm 1,47$) e 35,34 mm ($\pm 2,35$) respectivamente (figura 3).

Figura 2 – Altura média e desvio padrão das vieiras das vieiras cultivadas no litoral do Espírito Santo.



Obs.: D100 = densidade de 100 indivíduos por andar; D200 = densidade de 200 indivíduos por andar e D300 = densidade de 300 indivíduos por andar.

Figura 3 – Comprimento médio e desvio padrão das vieiras cultivadas no litoral do Espírito Santo.



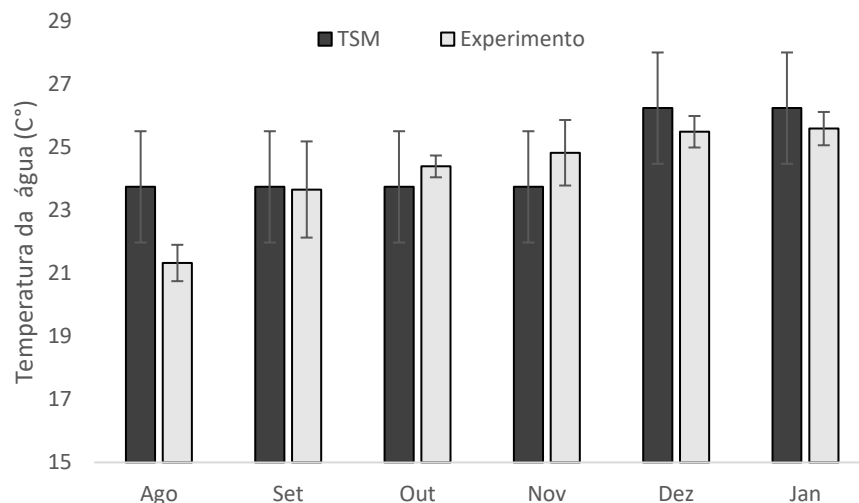
Obs.: D100 = densidade de 100 indivíduos por andar; D200 = densidade de 200 indivíduos por andar e D300 = densidade de 300 indivíduos por andar.

A menor densidade, 100 vieiras por andar, obteve incremento de 26,92 mm em altura de concha (DV) e 27,23 mm no comprimento (AP) ao longo dos 150 dias de experimento. Estas apresentaram uma taxa de crescimento específica mensal (TCE_m) de 17,98% e 18,81% respectivamente. A taxa de crescimento diário (TCE_d) foi de 0,60% e 0,62% para altura (DV) e comprimento (AP). Nas densidades 200 e 300 vieiras por andar o incremento no crescimento foi menor, 22,26 mm em altura (DV) de

concha e 23,29 mm no comprimento (AP) para densidade com 200 vieiras. E apenas 16,01 mm em altura (DV) e 17,05 mm no comprimento (AP) na maior densidade com 300 vieiras. Os valores observados para a taxa de crescimento específico mensal (TCE_m) na densidade 200 foram de 15,18% e 16,17% para altura (DV) e comprimento (AP) respectivamente. E crescimento diário (TCE_d) de 0,50% em altura e 0,53% comprimento. As menores taxas foram obtidas na densidade com 300 vieiras por andar, (TCE_m) de 12,08% e 13,08% para altura (DV) e comprimento (AP). E crescimento diário (TCE_d) de 0,40% em altura (DV) e 0,43% comprimento (AP) de concha.

A salinidade média observada durante o período experimental foi de 32,7 gramas/litro ($g.L^{-1}$) \pm 1,4 $g.L^{-1}$. E a temperatura da água do mar na área em estudo variou 4,3°C, com média $24,2 \pm 0,75^\circ C$ (figura 4). Os valores da temperatura da superfície do mar (TSM) registrados para a área de estudo foram distintos dos dados obtidos no local, mas apresentaram a mesma tendência.

Figura 4 – Variação da temperatura da água do mar onde as vieiras são cultivadas no Espírito Santo.

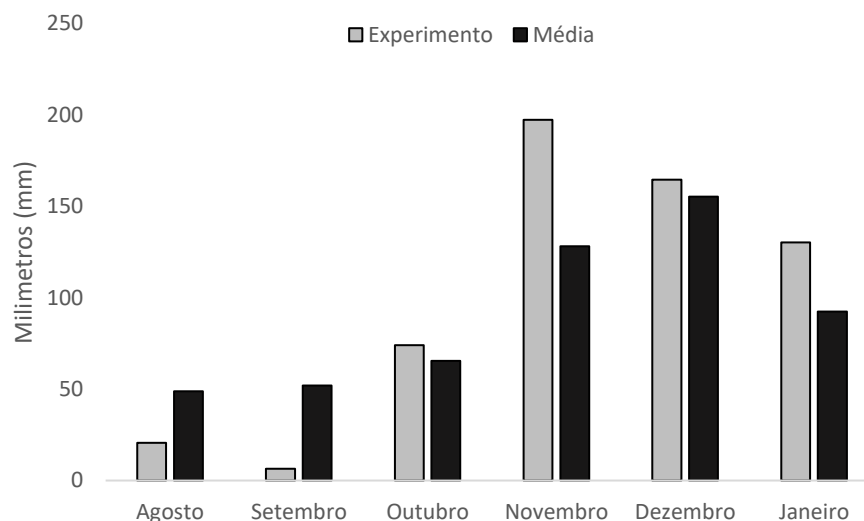


Obs: Comparação de dados locais com informações da TSM.

Os dados pluviométricos monitorados durante o período experimental registrados em agosto e setembro (inverno/primavera) foram de 20,7 e apenas 6,4 milímetros respectivamente. Estes valores ficaram abaixo da média registrada para o local. Os meses seguintes, outubro, novembro e dezembro (primavera/verão) apresentaram os maiores índices pluviométricos (figura 5). O mês de novembro

alcançou 197 milímetros de chuvas, seguido por dezembro com 164 milímetros. No mês de janeiro (verão) o índice diminuiu e alcançou 130 milímetros, mas se manteve acima da média (INCAPER 2017 & 2018).

Figura 5 – Índice pluviométrico durante período experimental no litoral do Espírito Santo.



DISCUSSÃO

Os resultados para sobrevivência das sementes de vieiras no presente estudo se mostrou elevado quando comparado a outros estudos, durante a mesma fase de cultivo. Na costa da Colômbia, Velasco *et al.* (2009) avaliou o desenvolvimento da espécie *N. nodosus* em lanternas com 45 cm de diâmetro, por 79 dias, no qual realizaram manejos de retirada dos incrustantes e biometrias em intervalos de 15 a 30 dias nas três densidades avaliadas, 144, 191 e 239 vieiras por andar, e obtiveram sobrevivência de 40% na densidade mais alta e 78% na densidade mais baixa. No presente estudo foi observado 92,3% e 89,8% de sobrevivência nas densidades de 200 e 300 vieiras respectivamente, valores superiores aos obtidos por Velasco *et al.* (2009) uma diferença de 11 a 14% ao comparar com seu melhor resultado.

No litoral de Ubatuba Bueno *et al.* (2010) ao avaliar melhor sobrevivência entre quatro diferentes tipos de estruturas de cultivo de vieiras, sendo elas pearl-net, bonnet, lanter-net e lanterna comum, encontrou 69,2%, 97%, 95,6% e 95,6% de sobrevivência, respectivamente. Ambas as lanternas utilizaram a mesma densidade, sendo estas de 500 vieiras por andar nos 30 primeiros dias de cultivo, 250 vieiras por andar nos posteriores 45 dias de cultivo e 30 vieiras por andar ao longo de 119 dias, totalizando 194 dias de experimentação. O valor da sobrevivência comparado com o mesmo tipo de estrutura utilizado neste estudo, pearl-net, com os mesmos 150 dias

de experimentação da presente pesquisa, apresentou-se superior, pois Bueno *et al.* (2010) em igual período de cultivo obteve 80% de sobrevivência e a presente pesquisa em seu pior e melhor resultado obteve respectivamente 89,8%, 95,2% de sobrevivência entre as vieiras do experimento.

No Rio de Janeiro, o estudo de Ferreira *et al.* (2017) encontrou 90,12% de sobrevivência média no cultivo de sementes de vieiras, ao avaliar inserção de organismos biocontroladores de fouling, com densidade de 250 vieiras por andar na fase inicial, por aproximadamente 112 dias. Este valor ficou próximo aos obtidos neste estudo, porém a espécie foi cultivada em densidade diferente e em menor tempo de acompanhamento. Nossos resultados mostram uma taxa de sobrevivência maior na densidade de 100 vieiras por andar, alcançando 95,2%, 92,3% na densidade de 200 vieiras por andar e 89.8% na densidade de 300 vieiras por andar.

O estudo de Carraro *et al.* (2012) constatou que uma possível causa para diminuição da sobrevivência no cultivo de vieiras é o acúmulo de “fouling”, organismos incrustantes que podem influenciar negativamente na sobrevivência. Na presente pesquisa, durante o período experimental, 150 dias de cultivo, não foi observada nenhuma relação negativa com fouling encontrado no manejo das vieiras em pearl-nets. Apenas se fez necessário a limpeza das malhas para manter circulação de água nas estruturas de cultivo e não interferir no processo de filtração das vieiras. As incrustações mais frequentes foram de ascídias, ostras, cracas e macroalgas.

A espécie apresentou crescimento satisfatório para área de cultivo, uma vez que não existem dados pretéritos para comparação na região. Ao comparar o resultado do crescimento final e sobrevivência da presente pesquisa com outras realizadas em diferentes localidades, tais como estudos de Velasco *et al.* (2009), Bueno *et al.* (2010), Carraro *et al.* 2012 e Ferreira *et al.* 2017 descritas na Tabela 1, é possível afirmar que a presente pesquisa obteve resultados significativos.

Tabela 1 – Dados referente ao crescimento e sobrevivência de *N. nodosus*.

Autor Local	Período (dias)	Semente (mm)	Densid. (uni)	Comp. (mm)	Sobrev. (%)	TCE (%)
Presente estudo	150	16,4 ± 2,38	100	45,4 ± 0,6	95,2	0,62
Velasco <i>et al.</i> 2009 Colômbia	79	16,1 ± 0,25	144	41,1 ± 2,1	78	1,18

Bueno <i>et al.</i> 2010 Ubatuba - SP	194	33,4	500	45,9 ± 1,7	69,2	0,16
Carraro <i>et al.</i> 2012 Bombinhas - SC	405	15,94	40	89	90,62	0,42
Ferreira <i>et al.</i> 2017 Mangaratiba - RJ	112	10,00 ± 2,0	250	34,08 ± 1,70	90,12	1,09

Obs: Os autores Bueno *et al.* 2010 utilizaram repicagem (500, 250, 30) & Carraro *et al.* 2012 (40, 18) ao longo do experimento.

O resultado do experimento para vieiras no município de Piúma apresentou diferença estatística significativa. O melhor resultado foi obtido para a densidade de 100 vieiras por andar. Os tratamentos diferiram estatisticamente já no mês de novembro, período que apresentou elevação da temperatura da água do mar e maior índice pluviométrico.

O estudo de Ferreira *et al.* 2017 obteve um incremento de 24,08 mm no comprimento médio, (TCE_m) de 32,84% e TCE_d de 1,09% nas vieiras cultivadas no Rio de Janeiro no período de 112 dias de experimento ao avaliar o uso de controle biológico em diferentes densidades, 250 vieiras por andar ao longo da fase de cultivo. No presente estudo as vieiras cultivadas obtiveram incremento de até 26,92 mm em altura (DV) de concha e 27,23 mm no comprimento (AP), (TCE_m) de 18,71% para comprimento e 17,98% para altura, (TCE_d) de 0,60% e 0,62% para altura e comprimento ao longo dos 150 dias de experimento na menor densidade. Incremento de 22,26 mm em altura e 23,29 mm em comprimento, (TCE_m) de 15,18% para altura e 16,17% para comprimento e (TCE_d) de 0,50% em altura e 0,53% comprimento na densidade de 200. As menores taxas foram obtidas na densidade com 300 vieiras por andar, (TCE_m) de 12,08% e 13,08% para altura e comprimento e (TCE_d) de 0,40% em altura e 0,43% comprimento de concha. Fletcher *et al.* 2013 afirma que o fouling aumenta consideravelmente o peso das valvas e acolmatação das lanternas, fato este que prejudica na abertura das valvas e na circulação interna da água, conseqüentemente diminui o fluxo e filtração pelos moluscos. A utilização de biocontroladores por Ferreira *et al.* 2017 pode ter influenciado no maior crescimento em comparação com o presente trabalho, devido a retirada do fouling principalmente nas lanternas e desta forma proporcionado maior passagem de água para o interior da lanterna, o que pode ter favorecido o maior crescimento das vieiras. Outra hipótese é por estar mais próximo a área de ressurgência em Cabo Frio, fato que nessa

localidade promove o rápido desenvolvimento de fitoplâncton e aumento da produtividade primária (SOUZA *et al.* 2015). Entretanto, vale ressaltar que o resultado de crescimento encontrado neste estudo é superior ao encontrado por diversos outros, tais como Bueno *et al.* (2010) e Carraro *et al.* (2012), porém a utilização de metodologias diferentes dificulta a comparação.

O presente estudo foi desenvolvido na área de cultivo da Associação de Maricultores próximo à foz do Rio Piúma, área abrigada pela Ilha dos Cabritos. Os dados referentes à salinidade do local podem sofrer influência da água doce do estuário durante as mudanças de marés, principalmente na camada superficial. A pluviosidade também pode influenciar a salinidade. Durante o período experimental não foi observado mortalidade e alteração no crescimento das vieiras. Estes dados se mantiveram constantes durante o período de chuvas, mesmo registrando valores acima da média histórica para região. Este comportamento pode estar relacionado ao local de colocação do sistema de cultivo, que se caracteriza por ser um local abrigado, com uma boa circulação de água devido a influência das marés, correntes e ventos.

Segundo o estudo de Rupp & Parsons (2004), a vieira é altamente suscetível a mudanças de salinidade, uma vez que são estenoalinas, possuem menor tolerância a salinidades inferiores a 22 g.L⁻¹. Assim, salinidades próximas a esta faixa podem causar mortalidade significativa da produção. Ressalta-se que no presente estudo a menor salinidade registrada foi de 30 g.L⁻¹, não afetando a sobrevivência e crescimento das vieiras.

A temperatura da água do mar observada durante o período experimental está condizente com a faixa ideal para espécie, 24 a 28°C (RUPP & PARSONS, 2004). Assim, a temperatura da água é um fator que influencia diretamente no crescimento das vieiras, pois de acordo com o estudo do Ipimar (2008), a temperatura é um fator essencial para o crescimento do fitoplâncton, que são filtrados pelos moluscos bivalves. Este parâmetro foi verificado apenas na faixa de profundidade correspondente a posição das pearl-nets para o presente estudo. E os dados obtidos foram comparados com a TSM, o que permitiu observar o aumento da temperatura na primavera e verão, mas que esta variação não foi superior a 4°C.

Fatores ambientais como salinidade, pluviosidade e temperatura da água devem ser monitorados de maneira constante. Ao analisar os dados pluviométricos foi observado que o período de maior incidência de chuva foi o mês de novembro. Assim, para a implementação e desenvolvimento de sistema de cultivo nesta região, deve-se

observar este período, visto que períodos prolongados de chuvas além de contribuir para diminuição da salinidade e alterar a temperatura, podem favorecer a contaminação microbiológica proveniente de descarga dos rios da região. Neste mesmo período na região sudeste do Brasil, com início do verão chuvoso, a estação também proporciona a maior migração populacional para as regiões costeiras, o turismo além de trazer benefícios econômicos para a região, aumenta ainda mais os riscos de contaminação das áreas litorâneas, devido à ineficiência do tratamento dos efluentes (SILVA *et al.* 2020). A partir deste fato, ressalta-se a importância da realização de monitoramentos constantes nas áreas de cultivo, bem como dos bancos naturais de onde são extraídos moluscos para consumo humano. Acredita-se que desta forma seja possível detectar causas de contaminação e conseqüentemente manter segura a saúde dos consumidores.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo observou maior crescimento em altura e comprimento de concha na densidade de 100 vieiras por andar durante a fase inicial de produção. Não houve diferenças significativas na mortalidade entre as densidades experimentais. A espécie de vieiras *N. nodosus* apresentou crescimento satisfatório, obtendo incremento de 26,92 mm em altura e 27,23 mm no comprimento, nesta densidade, proporcionando ótima taxa de crescimento mensal (TCE_m) 17,98% para altura da concha e 18,71% para o comprimento. No local do estudo, os parâmetros de qualidade foram altamente favoráveis ao crescimento das vieiras. Se faz necessário a realização de pesquisas referente ao crescimento e sobrevivência até os estágios finais da espécie, assim como observar novas densidades intermediárias para a região com o objetivo de otimizar a produção.

REFERÊNCIAS

ABELIN, P.; ARAÚJO, A.L.; ROMBENSON, A.N. Current status of scallop culture in Brazil. **World Aquaculture**, 47(3):12-17, 2016.

ARIDE, P. H. R.; ROUBACH, R.; VAL, A. L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. **Aquaculture Research**, 38 (1): 588-594, 2017.

BRASIL. Ministério do Turismo. **Litoral brasileiro tem 7,4 mil km de belezas naturais - Relatório Brasil**. Disponível em:

<<http://www.brasil.gov.br/editoria/turismo/2015/01/litoral-brasileiro-tem-7-4-mil-km-de-belezas-naturais>>> Acesso em: 13 outubro de 2018, 2017.

BUENO, R. S.; MARQUES, H.L.A.; ROMA, R.P.C.R. Crescimento e sobrevivência da Vieira *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758), (Mollusca: Pectinidae) em diferentes estruturas de cultivo na Praia Grande do Bonete, Ubatuba, Estado de São Paulo. **Biotemas**, 23 (1): 121-130, 2010.

CARRARO, J.L. RUPP, G.S.; MOTHES, B.; LERNER, C.; WÜRDIG, N.L. Characterization of the fouling community of macroinvertebrates on the scallop *Nodipecten nodosus* (Mollusca, Pectinidae) farmed in Santa Catarina, Brazil. **Ciencias Marinas**, 38 (3): 577-588. <http://dx.doi.org/10.7773/cm.v38i3.1982>, 2012.

DORE, I. Shellfish: A Guide to Oysters, Mussels, Scallops, Clams and Similar Products for the Commercial User. **Van Nostrand Reinhold**, New York, 537p, 1991.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Sustainability in action. Rome. 244 p, 2020. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.

FERREIRA, V. M.; PEREIRA, M. B.; AMORIM, M. A. S.; CRUZ, G. S.; BORGES, C. L. L. Uso de controle biológico para a fauna acompanhante no cultivo da vieira *Nodipecten nodosus* (LINNAEUS, 1758). **Revista Semioses**, 11 (02): 8-16, 2017.

FIPERJ – Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro. **Relatório Anual 2015**. Rio de Janeiro. 174 p, 2015.

FLETCHER, L. M.; FORREST, B. M.; BELL, J. J. Impacts of the invasive ascidian *Didemnum vexillum* on green-lipped mussel *Perna canaliculus* aquaculture in New Zealand. **Aquaculture Environment Interactions**, v.4, p.17-30, 2013.

GOSLING, E. Moluscos Bivalves Marinhos. 2. ed. Oxford: **Blackwell Publishing**. 537 p, 2015.

INCAPER – Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência Técnica e Extensão Rural. Boletim climatológico trimestral do Espírito Santo Jul-Set 2017. **Instituto capixaba de pesquisa, assistência técnica e extensão rural – Incaper**, Vitória, 3 (11), 1-30, 2017.

INCAPER – Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência Técnica e Extensão Rural. Boletim climatológico trimestral do Espírito Santo Out-Dez 2017. **Instituto capixaba de pesquisa, assistência técnica e extensão rural – Incaper**, Vitória, 4 (12): 1-29, 2017a.

INCAPER – Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência Técnica e Extensão Rural. Boletim climatológico trimestral do Espírito Santo Jan-Mar 2018. **Instituto capixaba de pesquisa, assistência técnica e extensão rural – Incaper**, Vitória, 4 (13): 1-30, 2018.

INEA – Instituto Estadual de Meio Ambiente. **Diagnóstico do setor costeiro da Baía da Ilha Grande**. Subsídios à elaboração do zoneamento ecológico econômico costeiro volume I. Rio de Janeiro. 242 p, 2015.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. **Mapas de temperatura da superfície do mar**. 2017. Disponível em:
<www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/temperaturaSuperficiemar> Acesso em 01 de Dez. 2017.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. **Mapas de temperatura da superfície do mar**. 2018. Disponível em:
<www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/temperaturaSuperficiemar> Acesso em 01 de Fev. 2018.

IPIMAR – Instituto de Investigação das Pescas e do Mar. **Produção, salubridade e comercialização dos moluscos bivalves em Portugal**. Ed. SILVA, H.A; BATISTA, I. Publicações Avulsas do IPIMAR, 20: 171 p, 2008.

KRAUSE, M. K; BRAND-SKOPNIK, E.V. Scallop Genetics and Genomics. In: SHUMWAY, S.; PARSONS, G. J. **Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries**, 40(3) Canadá: Elsevier Science. Cap. 9. p. 371-424, 2016.

LIMA, P. C. M.; LAVANDER, H.D.; SILVA, L.O.B.; GÁLVEZ, A.O. Larviculture of the sand clam cultivated in different densities. **Boletim do Instituto de Pesca**, [S.l.], v. 44, n. 2, p. 350-358, dec. 2018. ISSN 1678-2305. Available at:
<<https://www.pesca.agricultura.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/1292>>. Date accessed: 05 June 2020. doi: <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.271>.

MARQUES, H. L. A.; GALVÃO, M. S. N.; GARCIA, C. F.; HENRIQUES, M. B. Economic analysis of scallop culture at the north coast of São Paulo state, Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, 44 (2): 290. DOI: 10.20950/1678-2305.2018.290, 2018.

PEZZUTO, P.R. and BORZONE, C.A. The scallop *Pecten ziczac* (Linnaeus, 1758) fishery in Brazil. **J. Shellfish Res.** 16 (2): 527-532, 1997.

RUPP, G. S.; PARSONS, G. J. Effects of salinity and temperature on the survival and byssal attachment of the lion's paw scallop *Nodipecten nodosus* at its southern distribution limit. **J. Expt. Mar. Biol. Ecol.**, 309 (1): 173-198, 2004.

RUPP, G. S.; PARSONS, G. J. Scallop Aquaculture and Fisheries in Brazil. In: SHUMWAY, Sandra E. **Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture**. Amsterdam: Elsevier. Cap. 25. p. 1225-1250, 2006.

RUPP, G. S. Cultivo da vieira *Nodipecten nodosus* em Santa Catarina: influência da profundidade, densidade e frequência de limpeza. **Boletim Técnico 135**. Epagri. Florianópolis, Brasil, 83p.

RUPP, G.S; PARSONS, G.J. Aquaculture of the Scallop *Nodipecten nodosus* in Brazil. In: SHUMWAY, S.; PARSONS, G. J. **Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries**. Volume 40. 3ed. Canadá: Elsevier Science. Cap. 9. p. 999-1017, 2016.

SANTOS, A.A.; DELLA GIUSTINA, E.G. **Síntese informativa da maricultura 2017**. Florianópolis: EPAGRI. 8p, 2018. Disponível em: http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_epagri/Cedap/Estatistica-Sintese/Sintese-informativa-da-maricultura-2017.pdf. Acessado em 25 de outubro de 2018.

SANTOS, A.A.; MARCHIORI, N.C.; DELLA GIUSTINA, E.G. **Síntese informativa da maricultura 2016**. Florianópolis: EPAGRI. 8p, 2017. Disponível em: <http://www.epagri.sc.gov.br/wp-content/uploads/2013/08/Sintese-informativa-damaricultura-2016.pdf>. Acessado em 25 de outubro de 2018.

SCHULTER, E.P.; VIEIRA FILHO, J.E.R. **Evolução da Piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva da tilápia**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – Ipea. Brasília. 42p, 2017.

SILVA, B.R; MENEGARDO, S.B.; ARIDE, P.H.R.; LAVANDER, H.D.; SPAGO, F.R.; SOUZA, T.B. Qualidade microbiológica da água e dos mexilhões *Perna perna* (LINNAEUS, 1758) cultivados em Piúma, Espírito Santo, Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, 2020.

SOUZA, D.A.; ZANETTE, G.B.; NEVES, M.H.C.B. ; SCHRAMM, M.A. ; PROENÇA, L.A.O. ; OLIVEIRA, M.M. Cultivo de Moluscos Bivalves: Algas Nocivas e Bases para Programa de Monitoramento de Ficotoxinas em Fazenda de Maricultura de Arraial do Cabo, RJ. **Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego**, v. 9, p. 119-139, 2015.

SOUZA, T.B.; SILVA, B.R.; PEREIRA, R.M.; ARIDE, P.H.R.; OLIVEIRA, A.T.; SOUZA, A.B.; LAVANDER, H.D.; POLESE, M.F.; KROHLING, W. Artificial selection and size at first sexual maturity of *Perna perna* mussels (Linnaeus, 1758) in Southeastern Brazil. **Journal of Shellfish Research**, 38 (1): 1-7, 2019.

VELASCO, L. A.; BARROS, J.; GUERRERO, A. Effect of the density on the growth and survival of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus* in suspended culture. **Aquaculture Research**, 40 (6): 687-695, 2009.

DESENVOLVIMENTO DO MEXILHÃO *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) CULTIVADO NA ENSEADA DE ZIMBROS (BOMBINHAS – SC)

Leonardo João da Silva¹; Gilberto Caetano Manzoni²; Leandro João da Silva³.

RESUMO

Com o objetivo de verificar o desenvolvimento do mexilhão *Mytilus galloprovincialis*, foi realizado o cultivo em diferentes estações do ano na Enseada de Zimbros (Bombinhas-SC) entre abril de 2018 e março de 2019. Em cada estação do ano (C1=OUTONO; C2=INVERNO; C3=PRIMAVERA; C4=VERÃO) foram confeccionadas de 3 a 5 cordas de cultivo com densidade de 300 ind/m, a partir de sementes, com o tamanho entre 20 a 35 mm. Nestas cordas foram avaliadas a sobrevivência e o desenvolvimento dos mexilhões após 114 e 228 dias de cultivo, a partir da contagem dos indivíduos vivos e amostras aleatórias de 30 mexilhões de cada corda, observando a altura, comprimento, largura, peso vivo e peso da carne cozida. Os resultados demonstraram que após 114 dias de cultivo os lotes C1, C2, C3 e C4 apresentaram uma sobrevivência de 84,2; 75,9; 0 e 0%, respectivamente e em 228 dias, os lotes restantes, C1 e C2, apresentaram uma sobrevivência de 56,9 e 12,3 %. A diminuição na sobrevivência dos mexilhões dos lotes C1 e C2 (228 dias) e a mortalidade total dos organismos dos lotes C3 e C4 (114 dias) estiveram associadas temperaturas elevadas da água do mar (30,5 °C) registradas durante o verão e predação por peixes neste período. Com relação ao desenvolvimento dos mexilhões dos lotes C1 e C2 foi observado que as dimensões (altura, comprimento e largura) apresentam correlações positivas (>0,90), durante o período avaliado. O comprimento, peso do mexilhão vivo e da carne cozida entre os lotes (C1 e C2), através do teste de Wilcoxon ($\alpha = 0,05$), demonstraram que após 114 dias foram observadas diferenças entre estes parâmetros ($p > 0,05$). Por fim, após os 228 dias o comprimento e peso da carne se mantiveram diferentes ($p < 0,05$), contudo esta diferença não foi observada no peso do mexilhão vivo ($p = 0,67$). O percentual da carne cozida (PCC) variou de 16,2 a 26,2 %, contudo alguns indivíduos apresentaram valores superiores ao máximo já determinado para *P. perna*. Conclui-se que *M. galloprovincialis* apresenta potencial para cultivo, contudo recomenda-se que os cultivos sejam iniciados no outono e as colheitas realizadas antes do verão.

Palavras-chave: Mexilhão do mediterrâneo. Cultivo. Incremento. Percentual de carne cozida.

ABSTRACT

In order to verify the development of the mussel *Mytilus galloprovincialis*, cultivation was carried out in different seasons of the year in Enseada de Zimbros (Bombinhas-SC) between April 2018 and March 2019. In each season of the year (C1=AUTUMN; C2=WINTER; C3=SPRING; C4=SUMMER) 3 to 5 cultivation ropes

¹ Graduado em Oceanografia pela Universidade do Vale do Itajaí. Email: leozbs@live.com

² Doutor em Aquicultura pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Professor de Maricultura e Aquicultura geral do Curso de Oceanografia da Universidade do Vale do Itajaí. Link do Lattes <http://lattes.cnpq.br/1578212353079715>. Email: manzoni@univali.br

³ Graduado em Oceanografia pela Universidade do Vale do Itajaí. Link do Lattes <http://lattes.cnpq.br/3906771312906590> Email: leandro.zbs@gmail.com

with a density of 300 ind / m were made from seeds, with a size between 20 and 35 mm. On these strings, the survival and development of the mussels were evaluated after 114 and 228 days of cultivation, based on the count of live individuals and random samples of 30 mussels from each string, observing the height, length, width, live weight and weight of the meat cooked. The results showed that after 114 days of cultivation, lots C1, C2, C3 and C4 showed a survival of 84.2; 75.9; 0 and 0%, respectively and in 228 days, the remaining lots, C1 and C2, showed a survival of 56.9 and 12.3%. The decrease in the survival of mussels in batches C3 and C4 (114 days) and the total mortality of organisms in batches C3 and C4 (114 days) were associated with high seawater temperatures (30.5 ° C) recorded during the summer and predation by fish in this period. Regarding the development of mussels in batches C1 and C2, it was observed that the dimensions (height, length and width) show positive correlations (> 0.90), during the evaluated period. The length, weight of live mussel and cooked meat between batches (C1 and C2), through the Wilcoxon test ($\alpha = 0.05$), demonstrated that after 114 days differences were observed between these parameters ($p > 0.05$). Finally, after 228 days the length and weight of the meat remained different ($p < 0.05$), however this difference was not observed in the weight of the live mussel ($p = 0.67$). The percentage of cooked meat (PCC) varied from 16.2 to 26.2%, however, some individuals presented values higher than the maximum already determined for *P. perna*. It is concluded that *M. galloprovincialis* has potential for cultivation, however it is recommended that crops be started in autumn and harvests carried out before summer.

Keywords: Mediterranean mussel, Cultivation, Increment, Percentage of cooked meat.

INTRODUÇÃO

A população humana tende a atingir em torno de 9,5 bilhões de pessoas até 2050, ocasionando uma maior demanda na produção de alimentos (FAO, 2016). Como alternativa de fornecimento de pescados, encontra-se a aquicultura, que de acordo com Marenzi e Branco (2006) a possibilidade da exploração tridimensional do ambiente, tende a facilitar a produção em grande escala, além de poder incentivar a preservação dos estoques naturais.

Dentre os países com potencial para a aquicultura, o Brasil destaca-se por possuir disponibilidade hídrica, clima favorável e ocorrência natural de espécies aquáticas que compatibilizam interesse zootécnico e mercadológico (BRASIL, 2013).

No Brasil, o cultivo de moluscos (malacocultura) tem se desenvolvido fortemente nas últimas décadas. Esta atividade foi introduzida a nível experimental na década de 1960, com destaque para o projeto denominado “Cabo Frio” coordenado pelo Almirante Paulo Moreira da Silva, que apresentava informações sobre o cultivo de ostras e mexilhões como bases fundamentais para um programa de maricultura intensiva em Arraial do Cabo (Rio de Janeiro) (VALENTI, 2000). Já a nível comercial

iniciou se em Santa Catarina, a partir do ano 1989, com trabalhos desenvolvidos pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) em parceria com governo do estado, atrás da Secretaria de Estado de Desenvolvimento Rural e da Agricultura e da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) e principalmente, pela participação das comunidades pesqueiras. A partir de 1994, e Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), através da implantação do Centro Experimental de Maricultura, começou a colaborar no processo da expansão da malacocultura em Santa Catarina (MANZONI, 2005).

Atualmente Santa Catarina é a líder nacional na produção de moluscos, sendo responsável por cerca de 95% de toda produção brasileira, e o segundo maior produtor da América Latina, perdendo apenas para o Chile (EPAGRI, 2018; FAO, 2016). Com base aos dados da EPAGRI (2018) no ano de 2013 a produção chegou ao patamar de 23 mil toneladas, mas em 2017 obteve uma grande queda, produzindo em torno de 13,7 mil toneladas, sendo a menor produção desde 2010.

Entre os moluscos cultivados encontra-se o mexilhão *Perna perna*, a ostra japonesa *Crassostrea gigas*, a ostra nativa ou do mangue *Crassostrea gasar* e a vieira *Nodipecten nodosus* (EPAGRI, 2018). Também existem relatos de outras espécies de moluscos que são exploradas como o berbigão *Anomalocardia brasiliiana*, o mexilhão do mangue das espécies *Mytella guayanensis* e *M. falcata*.

A mitilicultura ou cultivo de mexilhões é o setor da malacocultura com maior produção no Estado o qual colaborou com 12.534 toneladas correspondend um valor de 81,48% de toda a produção no ano de 2016, tratando-se de apenas uma única espécie cultivada que é o *Perna perna* (EPAGRI, 2018).

No ano de 2017 a safra de mexilhões teve um decréscimo de 11,79% em relação com a safra de 2016, obtendo uma produção de 11.056 toneladas. Esta diminuição na produção está associada a diversos fatores, contudo cabe destacar que as condições adversas de chuva e maré vermelha, no município de Penha, que ocasionou uma redução de 72,6 % em relação à safra de mexilhões de 2016. Já no município de Bombinhas, ocorreu uma queda de 33,4%, devido ao assentamento massivo de sementes de *Mytilus edulis platensis* nos coletores artificiais empregados na captação de sementes do *Perna perna* (EPAGRI, 2018).

De acordo com este relatório, os produtores de Bombinhas relataram que a invasão do mexilhão *M. e. platensis* nos coletores de *P. perna*, onde visualmente corresponderam, aproximadamente, a 80 a 90% em relação ao mexilhão já cultivado.

No entanto com o passar dos meses, 60% dos mexilhões fixados nos coletores artificiais foram perdidos, devido a ação de ventos e ondas e a fragilidade do sistema de fixação do *M. e. platensis*, sendo que os que continuaram fixados nos coletores foram comercializados junto com os *P. perna*.

Com relação a identificação da espécie *Mytilus edulis platensis*, é importante destacar que até 2019, os critérios utilizados foram morfológicos e alicerçados nas publicações de Rios (2009), onde o autor afirma que no Sul do Brasil, esta espécie é pouco comum, com ocorrência descrita para o litoral do Rio Grande do Sul e Paraná.

Contudo, Belz et al (2020), analisando molecularmente os mexilhões coletados em Bombinhas e nas áreas de cultivo de moluscos localizados na Baía Sul em Florianópolis (SC), afirma que a espécie é *Mytilus galloprovincialis*. Neste sentido, a partir do trabalho de Belz et al (2020), considera-se que os relatos de ocorrência da espécie *Mytilus edulis platensis* em Santa Catarina o correto é referenciar a espécie como *Mytilus galloprovincialis*.

Neste sentido, considerando que o município de Bombinhas é o terceiro maior produtor de mexilhões de Santa Catarina (EPAGRI, 2018) e neste local os maricultores vem presenciando nos últimos anos a ocorrência significativa da espécie *Mytilus galloprovincialis*, classificada erroneamente como *Mytilus edulis platensis*, e que este mexilhão vem sendo comercializada desde então junto com *Perna perna*, associado a falta de informações sobre o comportamento desta espécie quando cultivada, o presente trabalho tem como objetivo verificar o desenvolvimento (crescimento, sobrevivência, relação peso carne/peso total) do mexilhão *M. galloprovincialis* em cultivo suspenso na Enseada de Zimbros (Bombinhas-SC), em diferentes estações do ano.

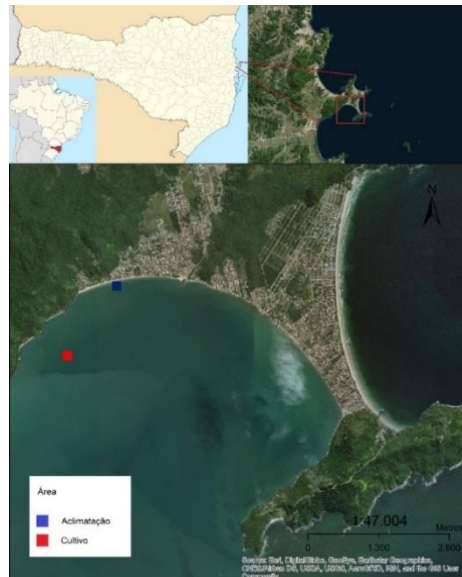
Com a obtenção destas informações será possível identificar a potencialidade “biológica” de *Mytilus galloprovincialis*, e conseqüentemente obter subsídios que possam promover a eventual diversificação das espécies de mexilhões cultivados no sul do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para verificar o desenvolvimento do mexilhão *Mytilus galloprovincialis* em sistema de cultivo suspenso em diferentes estações do ano foi implementado um cultivo no Parque Aquícola Bombinhas, localizado no extremo oeste da Enseada de Zimbros, em Bombinhas (Santa Catarina) (Figura 1). A área aquícola está posicionada

a cerca de 800 a 1000 metros da costa (Praia da Lagoa) e com profundidade variando entre 5 e 6 metros.

Figura 1. Localização da área de estudo, Enseada de Zimbros, Bombinhas – SC, onde em azul o local destinado a aclimação e em vermelho a área de cultivo.



Fonte: Google Earth modificado pelo autor.

A morfologia da área de estudo é caracterizada pela presença de promontórios rochosos, baixo relevo e pequenas ilhas. Sendo abrigada da incidência de ondas pela península de Porto Belo ao Norte, as ilhas da Reserva Biológica Marinha do Arvoredo a Leste, ilha de Santa Catarina e pela península de Ganchos ao Sul. Nessa região ainda ocorre a influência de aporte sedimentar oriundo do rio Tijucas, propiciando a deposição de sedimento lamoso em grande parte da baía de Tijucas (SCHETTINI, 1998).

As sementes de *Mytilus galloprovincialis* foram obtidas de coletores dispostos em área aquícola adjacente, em dias anteriores ao período de submersão. Cada corda foi preparada com 300 indivíduos por metro, obedecendo a recomendação de Suplicy (2018) para o mexilhão *Perna perna*, que nesta densidade, apresenta um maior crescimento e menor perda de indivíduos para o meio.

Para o primeiro lote, denominado de “C1”, que foi submerso no início do outono, foram selecionadas 1500 sementes do mexilhão com o comprimento médio e desvio padrão de $26,17 \pm 2,57$ mm. Para o lote de inverno (C2), não foi possível a seleção de sementes suficientes para compor 5 cordas, em consequência à escassez de

indivíduos nos coletores. Foram obtidas apenas 1000 sementes com comprimento médio e desvio padrão de $29,15 \pm 3,22$ mm, quantidade suficiente para confecção de 3 cordas de cultivo. Na primavera, não foi verificada restrições na quantidade de sementes, pois foram identificadas elevadas concentrações de *M. galloprovincialis* nos coletores, sendo confeccionadas 5 cordas de cultivo com sementes medindo $26,72 \pm 3,13$ mm de comprimento médio e desvio padrão. Já o lote iniciado durante a estação de verão (C4) seguiu o mesmo procedimento, confecção de 5 cordas com sementes de *Mytilus galloprovincialis* com comprimento médio e desvio padrão de $27,89 \pm 3,94$ mm (Figura 2).

Figura 2. Sementes de *Mytilus galloprovincialis* coletadas para confecção das cordas para cultivo.



Fonte: Autor

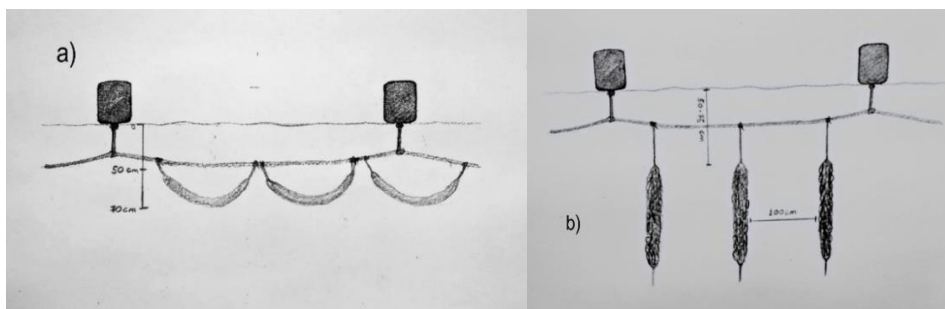
Os lotes foram compostos de 5 cordas, onde 3 foram analisadas (triplicatas) e 2 serviram de cordas reservas. Na etapa inicial dos experimentos as sementes foram introduzidas em duas malhas tubulares (nylon 30 mm e algodão) com o comprimento de 1 metro, obedecendo aos mesmos procedimentos metodológicos utilizados no cultivo da espécie *Perna perna* descrito por Marenzi *et. al.* (2008). Na segunda imersão realizada após a primeira análise (114 – 228 dias), além da malha tubular de algodão foi adotada uma malha de nylon com maior abertura (60 mm) evitando assim restringir o crescimento dos mexilhões cultivados.

Após a confecção das cordas de cultivo, elas foram transferidas para um sistema de *longline* composto por flutuadores (bombonas de 20 litros) interligados por um cabo principal localizado a 150 metros da praia de Zimbros (área de aclimatação). Esta área foi selecionada por sofrer menos interferência das ondulações e correntes,

facilitando a fixação das sementes antes do rompimento da malha de algodão, minimizando assim a perda de semente suscetível a cair.

As cordas foram amarradas pelas extremidades no cabo principal e ficaram dispostas paralelamente em U evitando o acúmulo de sementes na parte inferior da corda, a uma profundidade entre 50 a 70 cm da linha de água conforme o esquema na Figura 3 (a). Após um período de sete dias estas cordas foram transferidas para a área aquícola, diretamente a um *longline* de cultivo, ficando amarradas somente por uma das extremidades, de forma vertical, em uma profundidade entre 50 e 75 cm e distância entre cordas de 100 cm (Figura 3 b).

Figura 3. Esquema ilustrativo a) sistema de *longline* com cordas em U, b) sistema de *longline* com cordas perpendiculares a linha d'água.



Fonte: Autor.

As cordas dos lotes foram aleatoriamente distribuídas ao longo do cabo principal do *longline* a fim de minimizar erros providos de fatores externos não controlados (predação, distribuição de alimento). Para as análises, foram selecionadas aleatoriamente três das cinco cordas elaboradas para o lote C1, C3, C4. No lote C2, foram utilizadas as únicas três cordas disponíveis, já que, como descrito anteriormente, não foi possível confeccionar mais unidades em razão da escassez de sementes.

Durante o período da pesquisa foram mensuradas semanalmente a salinidade com refratômetro portátil RZ com precisão de 1 e a temperatura com auxílio do termômetro analógico de mercúrio com incerteza de 0,5° C. As medições foram realizadas *in situ* na área de cultivo entre 08:00 e 12:00 horas. Para mensurar a temperatura foi submergido o termômetro a 75 cm de profundidade durante 2 minutos. Já para a determinação da salinidade foi coletada água na mesma profundidade em uma garrafa de água.

O desenvolvimento (peso e tamanho) e a sobrevivência dos mexilhões cultivados foram avaliados em 114 e 228 dias após a imersão das cordas. Nas amostragens realizadas foi utilizando método amostral diferenciado para 114 e 228 dias. Em cada amostragem foi feita a desmontagem da corda e contagem do número total de indivíduos para determinação da sobrevivência. Na amostra de 114 dias foi realizada uma separação de classes, com o objetivo de identificar a proporção de mexilhões com tamanho comercial que, conforme descrito pela FAO (2009) para a espécie *M. galloprovincialis*, é de 40 a 60 mm. Neste sentido foram separados organismos menores e maiores que 40 mm. Após a separação foram retirados ao total 30 indivíduos seguindo a proporção de classe de tamanho dos mexilhões obtida.

Para a amostra após 228 dias de cultivo, os mexilhões foram contabilizados por classe de comprimento (10 mm), e em seguida homogeneizados para a realização de uma amostragem aleatória em cada corda de cultivo. Ressaltasse que antes de cada amostragem (114 e 228 dias), os Mexilhões (sementes) com tamanho inferior a 29,9 mm e sem deformidade na linha de crescimento, foram separados das cordas e considerados como organismos recrutantes.

As amostras de 114 e 228 dias foram encaminhadas para o CEMar – Penha (SC), onde os mitílídeos passaram por processos de remoção das incrustações em suas conchas; medição da altura, comprimento e largura; determinação do peso do organismo vivo individual e verificação do peso da carne cozida para determinação do percentual de carne cozida.

As amostras de mexilhões após a primeira parte da triagem foram dispostas em um separador (para o rastreamento dos mexilhões já mensurados), que foi colocado em um recipiente de alumínio e coberto por água, para a realização do cozimento em fogão doméstico até a abertura completa das valvas (correspondendo um período máximo de 5 minutos) (FERREIRA *et. al.*, 2006; SUPLICY, 2018). Logo em seguida foram transferidos para uma bancada onde foi separada a carne da concha.

As pesagens foram efetuadas individualmente em uma balança analítica com precisão 0,01 g. A aferição das dimensões (altura, comprimento e largura) da concha foi feita com auxílio de um paquímetro digital de precisão 0,1 mm.

Os valores biométricos (altura, comprimento, largura, peso total, peso carne) foram tabulados em planilha Excel para posteriormente terem os seus valores médios de crescimento e desvio padrão determinados para cada amostra e lote. Para a

amostra de 114 dias foi utilizada média estratificada realizada a partir da equação descrita por Krebs (2014) por se tratar de uma amostragem com números de indivíduos diferentes entre cada classe (<40 e ≥40 mm). Já para a amostragem de 228 dias foi utilizada a média aritmética por se tratar de amostragens aleatórias.

A sobrevivência (S), em termos de percentagem, por corda de cultivo foi determinada pela Equação (1).

$$S = \frac{N_{a(t)}}{N_{(i)}} 100$$

Onde:

S= Percentual de sobrevivência (%);

Na(t)= Número de indivíduos vivos encontrados no período de amostragem *a* (*t* = 1 (114 dias) e *t* = 2 (228 dias));

N(i)= Número de sementes ensacadas na imersão inicial ou secundária.

A porcentagem de carne cozida (PCC) definida também como índice de condição indica a quantidade parte comestível do bivalve em relação ao espaço da cavidade da concha, ou seja, reflete o rendimento de carne do organismo. O método mais prático para realizar esta análise é proposto por Ferreira et. al. (2006), que considera a porcentagem de carne cozida em relação ao peso total do organismo vivo, sendo equivalente ao método de porcentagem de carne cozida (PCC) utilizado pelas indústrias de processamento. Ressalta-se que ambas as análises de condição apresentam correlação positiva (SILVA, 2007).

Sendo assim o índice utilizado nesse trabalho foi determinado pela Equação (2) utilizando os mesmos indivíduos selecionados para a obtenção das medidas de altura, comprimento e largura.

Equação (2). Fórmula da porcentagem da carne cozida.

$$S = \frac{N_{a(t)}}{N_{(i)}} 100$$

Onde:

PCC= Porcentagem de carne cozida;

PC= Peso da carne cozida;

PTv= Peso total do organismo vivo.

Os dados de altura, comprimento e largura foram plotados em gráficos com o intuito de verificar o comportamento do crescimento das dimensões durante o período em cultivo. Para isso foi utilizado o método de correlação de Spearman do pacote de ferramentas de análises de dados do software EXCEL versão 1808 (Microsoft Office 365 ProPlus).

Para verificar o melhor desempenho entre os lotes cultivados, os dados de comprimento, peso do organismo vivo e peso da carne para os períodos de 114 e 228 dias separadamente, foram dispostos aos testes de homogeneidade e normalidade das variáveis segundo Bartlett e Shapiro-Wilk. Com os resultados dos testes, verificou-se que ambos os dados dos dois períodos não apresentaram normalidade (distribuição normal), sendo assim se conduziu a um teste não paramétrico de comparação de amostras dependentes. Onde os lotes com o período de 114 dias e posteriormente os lotes com períodos de 228 dias foram sujeitos a aplicação do teste de Wilcoxon considerando um nível de significância $\alpha = 0,05$.

Para as análises de sobrevivência dos organismos foi aplicado um Teste-t de Student com $\alpha = 0,05$, visando verificar se houve diferenças significativas entre os índices para cada tratamento (Lote/período de cultivo). Posteriormente para uma melhor visualização os índices foram transformados em porcentagem.

Todas as análises estatísticas utilizando: homogeneidade, normalidade, teste de Wilcoxon e Teste-t de Student, foram realizadas com auxílio do software R-3.5.3 (R CORE TEAM, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante o período do estudo a salinidade variou entre 28 e 36, apresentando salinidades médias homogêneas em quase todo o período do estudo, com exceção do lote C1 com período de 114 dias, apresentando menor variação que os demais lotes/períodos (Tabela 1).

Já a temperatura oscilou 14,5 °C, tendo a temperatura mínima no mês de julho com 16 °C (14/07/2018) e sua máxima em janeiro apresentando 30,5 °C (18/01/2019). O lote C2 com 228 dias esteve submetido as maiores variações térmicas. Os demais lotes presenciaram menores variações, entretanto os lotes C1 e C2 com 114 dias e C1 com 228 dias foram cultivados em temperaturas mais amenas e os lotes C3 e C4 (114 dias) em temperaturas, mais elevadas (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médio, mínimos e máximos dos parâmetros físico-químicos analisados durante os períodos de cultivo dos lotes.

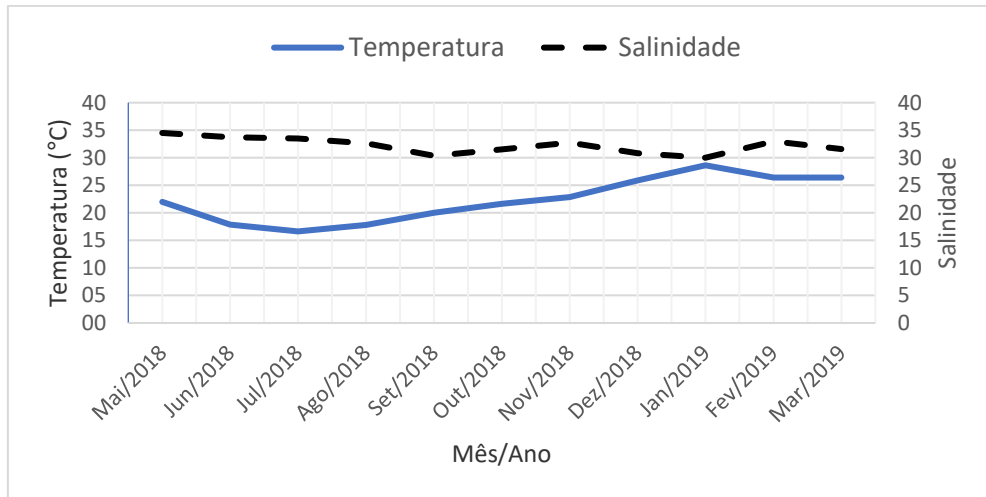
Lote/Período	Salinidade			Temperatura (°C)		
	Média	Min	Max	Média	Min	Max
C1 / 114	33,9 ± 1,1	33	36	18,7 ± 2,5	16,0	23,0
C1 / 228	32,7 ± 1,8	29	36	19,9 ± 2,6	16,0	25,0
C2 / 113	31,6 ± 1,6	29	34	21,2 ± 2,2	17,0	25,0
C2 / 228	31,5 ± 2,0	28	35	24,2 ± 3,5	17,0	30,5
C3 / 114	31,6 ± 2,2	28	35	26,0 ± 2,4	22,0	30,5
C4 / 114	31,7 ± 2,2	28	35	26,8 ± 2,1	24,0	30,5

Fonte: Pesquisa de Campo.

Os valores médios de salinidade e temperatura identificados no presente trabalho estão dentro dos padrões observados na Enseada de Zimbros por outros pesquisadores, pois de acordo Proença (2002), a variação de salinidade e temperatura registrada de setembro de 1997 a agosto de 1998, foi de 26 a 35 e 18 a 28°C, respectivamente. Já Silva (2007) encontrou temperatura variando entre 16 a 27°C durante o período de julho de 2005 a maio de 2006.

Entretanto, analisando os valores máximos de temperatura observados neste verão de 2018/2019, observa-se uma possível anomalia na temperatura da água pois a partir do final de dezembro, começaram a ser registrados valores de temperatura d'água superiores a 28°C (Figura 4), chegando a 30,5°C em uma análise durante os meses de janeiro. Salienta-se que estes valores, superiores a 28°C, não foram registrados por Proença (2002) e Silva (2007).

Figura 4. Variação média mensal da temperatura e salinidade na área de cultivo.



Fonte: Pesquisa de Campo.

Estudo detalhado e sistemático sobre a influência dos fatores de salinidade e temperatura na sobrevivência do mexilhão *M. galloprovincialis*, no litoral do sul brasileiro ainda não foram realizados, entretanto a espécie dos mesmos gênero, *Mytilus edulis platensis* é descrita como eurihalina e euritérmica (PENCHASZADEH, 1975) e tem como principal região de ocorrência o Litoral da Argentina, Uruguai e o Estado do Rio Grande do Sul, onde a salinidade varia entre 30 e 36 e a temperatura de 9 a 25°C (MÖLLER JR ., 2008).

Por outro lado, de acordo com a FAO (2009), *M. edulis*, uma espécie similar ao *M. galloprovincialis*, demonstra ser tolerante a uma vasta gama de condições ambientais, sendo uma espécie eurihalina podendo ocorrer em ambientes com salinidade de 4, sendo que as condições favoráveis para a espécie tendem a ser iguais ou superiores que 15. Além de serem euritérmicos, podendo resistir a condições de congelamento (registrada no Canadá), mas apresentando condições favoráveis entre 5 a 20°C, sendo o limite superior tolerável de 29°C em adultos.

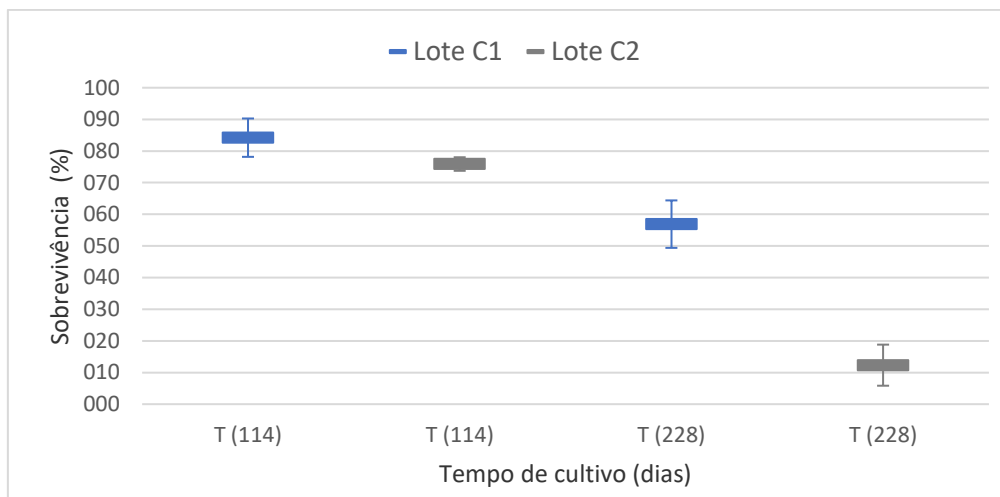
Os percentuais de sobrevivência médio dos lotes C1 e C2 após 114 dias de cultivo (Figura 5) não apresentaram diferença significativa ($p = 0,1291$). Por outro lado, os lotes C3 e C4 apresentaram taxas de sobrevivência estatisticamente distintas aos lotes C1 e C2, pois praticamente não foram encontrados mexilhões vivos (100% mortalidade), nos 114 dias de cultivo. O fator ambiental que possivelmente tenha ocasionado esta mortalidade foi a temperatura da água, pois ambos os lotes permaneceram submersos em cultivo durante a estação do verão, que apresentou temperaturas máximas de 30,5°C.

A influência da temperatura na sobrevivência desta espécie foi relatada por Magalhães *et. al.* (1993) que registraram que indivíduos de *Mytilus edulis platensis*, que conforme comentado pode ter sido identificado de maneira equivocada, pois Beltz *et al.* (2020) analisando molecularmente mexilhões “exóticos” deste local como *Mytilus galloprovincialis*, apresentaram grandes mortalidades (natural) quando a temperatura alcançou 28,5°C nos meses de janeiro e fevereiro de 1993 nos coletores tanto no município de Palhoça como na Ilha de Ratonés Grandes. Já Couto *et. al.* (2008) verificou mortalidade total deste mitilídeo quando a temperatura do mar alcançou 29°C em janeiro de 2008 na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina.

De acordo com Couto *et. al.* (2008) nestas condições, temperatura superior a 29,0 °C, os organismos tendem a morrer em sua totalidade em curto espaço de tempo. Entretanto este comportamento não foi observado nesse trabalho, pois o lote C2 (no período de 114 a 228 dias) que foi desdobrado (repicagem de cordas) em dezembro e colhido no mês de março apresentou 12,3 ± 6,5% de sobreviventes. Já o lote C1 que não presenciou temperatura elevadas (máx. 25°C) registrou uma sobrevivência de 56,9 ± 7,5% no fim da primavera. Destaca-se que os valores médios de sobrevivência dos lotes C1 e C2 após o segundo período de cultivo apresentaram diferenças significativa ($p = 0,001592$) quando comparado entre eles.

Os valores de sobrevivência do mexilhão, (*Mytilus galloprovincialis*), observados no presente estudo foram inferiores aos descritos para a principal espécie cultivada (*P. perna*) em Santa Catarina, pois de acordo com Marenzi e Branco (2006) o mitilídeo cultivado na Armação do Itapocoroy (Penha) apresentou no período de 4 meses de cultivo sobrevivência de 88,6% e 79,2% em 8 meses de cultivo com temperaturas adequadas para espécie. Também foi inferior ao *M. e. platensis* cultivado no Golfo San José (Argentina) a uma densidade de 450 ind/m, que apresentou 91,1% de sobrevivência em 6 meses e 85,1% em 9 meses de cultivo (ZAIXSO; LIZARRALDE, 2001).

Figura 5. Sobrevivência dos mexilhões cultivados, tendo início nas estações de outono (C1) e inverno (C2) em dois períodos (114 e 228 dias). As barras verticais indicam o desvio-padrão e as barras horizontais destacadas em azul e cinza indicam a média.



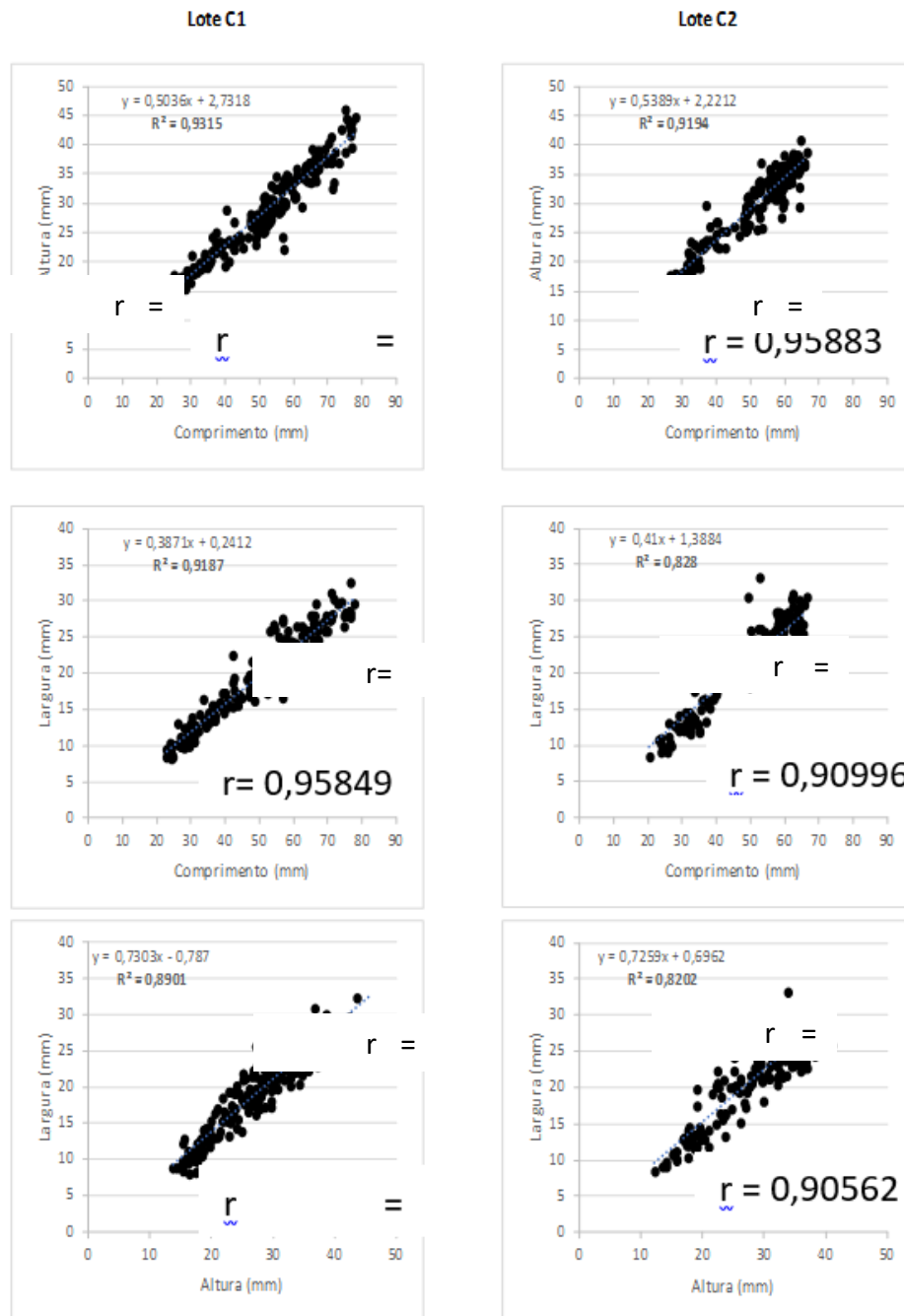
Fonte: Pesquisa de Campo.

Além da temperatura, outro fator que pode ter influenciado a sobrevivência dos organismos dos lotes C3 e C4 cultivados na Enseada do Zimbros (SC) foi a predação das sementes por peixes nas cordas de cultivo. De acordo com Suplicy (2018) durante o período com temperaturas do mar mais quentes, que pode se estender de novembro a abril, as sementes de mexilhões no litoral de Santa Catarina, são fortemente predadas por peixes como o borriquete (*Pogonias cromis*), a canhanha (*Archosargus rhomboidalis*), o marimbá (*Diplodus argenteus*) entre outros. Devido à mortalidade de 100% dos mexilhões dos lotes C3 e C4 descrita anteriormente, a avaliação do crescimento dos organismos e percentual de carne cozida foi realizada apenas com os lotes C1 e C2 (114 e 228 dias).

Com relação ao crescimento entre as dimensões da concha, durante os períodos de cultivo os mexilhões apresentaram linearidade no crescimento das dimensões. Os dados de altura, comprimento e largura apresentaram correlação positiva muito forte durante o crescimento, com índices superiores a 0,90 como pode ser observado na Figura 6. Entretanto o lote C2 apresentou maiores dispersões possivelmente devido a maior frequência de organismos encontrados com deformidade na linha de crescimento.

A maior magnitude em altura e comprimento foi observada no lote C1 (Figura 6) sendo possivelmente resultado de um menor incremento ou até mesmo da mortalidade dos mexilhões de maiores dimensões no lote C2.

Figura 6. Relação altura x comprimento; largura x comprimento e altura x largura ao longo do experimento onde se observa que os indivíduos do lote C1 possuem uma distribuição mais homogênea que os do lote C2 e R2 maior.



Fonte: Pesquisa de Campo.

Os mexilhões dispostos em cultivos tiveram um crescimento (incremento) diferenciado, sendo que o lote C1 apresentou um melhor desempenho durante o período pós desdobre (228 dias), contudo o lote C2 obteve um melhor crescimento no cultivo de 114 dias (Tabela 2). Ambos os lotes nesse período mencionados estiveram

sob mesmas condições ambientais, presenciando em sua maior parte a estação da primavera.

Tabela 2. Incremento médio em milímetro das dimensões altura, comprimento e largura e seus respectivos desvios padrões nos lotes C1 e C2 cultivados em dois períodos.

Lote - período (dias)	Altura (mm)			Comprimento (mm)			Largura (mm)		
C1 - 0 a 114	7,8	±	0,6	17,0	±	1,7	7,0	±	0,4
C2 - 0 a 114	11,4	±	0,6	18,8	±	1,6	9,3	±	0,1
C1 - 114 a 228	9,5	±	0,8	17,0	±	2,4	7,8	±	0,5
C2 - 114 a 228	4,7	±	0,8	10,4	±	1,8	4,2	±	1,2

Fonte: Pesquisa de Campo.

Após 114 e 228 dias de cultivo, apresentaram visualmente incremento semelhante no lote C1, demonstrando diferença notáveis apenas na altura. Por sua vez o lote C2 apresentou menores incrementos após o desdobre. Os mexilhões do lote C1 e C2 não apresentaram diferença significativa no comprimento ($p = 0,1713$), peso da carne ($p = 0,05641$) e peso total do organismo vivo ($p = 0,05198$) no período inicial do cultivo (Tabela 3).

Tabela 3. Médias e respectivos desvios padrões do comprimento (mm), peso total (g) e peso da carne (g) dos mexilhões, durante o período inicial, 114 e 228 dias para os lotes C1 e C2; com p-valor resultante do teste de Wilcoxon - quando o $p < 0,05$, há diferença significativa entre as médias.

Lote - período (dias)	Comprimento (mm)			Peso total (g)			Peso da carne (g)		
C1 - Início	27,81	±	3,32	3,00	±	1,04	0,55	±	0,26
C2 - Início	29,02	±	4,07	3,67	±	1,16	0,66	±	0,23
(p - valor)	0,1713			0,05198			0,05641		
C1 - 114	44,80	±	8,90	10,10	±	4,59	1,77	±	1,21
C2 - 114	47,90	±	10,66	15,39	±	7,04	3,36	±	1,91
(p - valor)	0,009447			1,789e-07			6,085e-09		
C1 - 228	61,86	±	10,51	26,47	±	9,42	7,08	±	3,14
C2 - 228	58,07	±	5,30	25,18	±	5,25	4,05	±	1,44
(p - valor)	0,0003912			0,6668			3,729e-11		

Fonte: Pesquisa de Campo.

O crescimento do comprimento dos mexilhões, no lote C1 iniciado no mês de abril e o lote C2 iniciado no mês de agosto podem ser observados na Figura 7. Verifica-se que os organismos com comprimento inicial similar passaram a apresentar diferenças significativas ($p = 0009447$) após os 114 dias de cultivo, sendo que os indivíduos do lote C2 apresentaram 3,06 mm a mais que os do lote C1. Contudo esse desempenho não foi observado após o desdobre, podendo ter sido ocasionado pelo menor crescimento ou até mesmo mortalidade por estresse fisiológico dos organismos de maiores dimensões, ocasionando assim médias menores ao final do estudo.

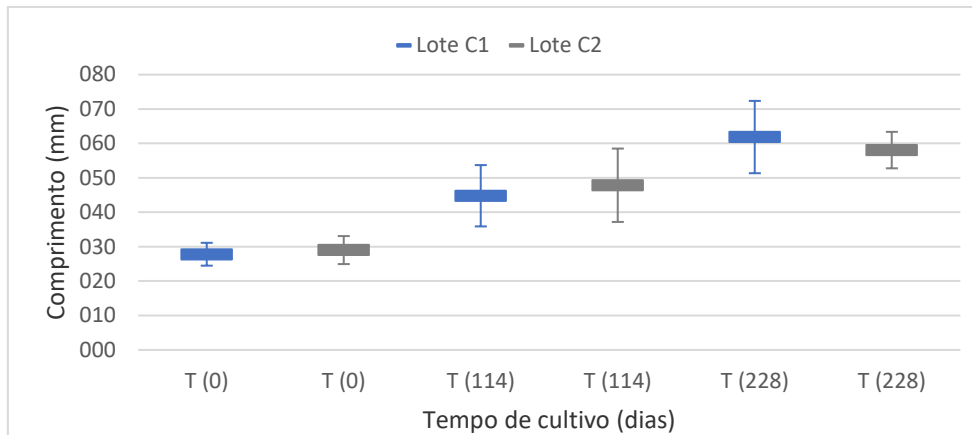
Ressalta-se que estas diferenças encontradas entre comprimento médio dos mexilhões entre os lotes nos dois períodos avaliados, apesar de estatisticamente significativa, estão na ordem de milímetros, não sendo comercialmente relevante.

Considerando o tamanho médio final do mexilhão *M. galloprovincialis* após os 228 dias de cultivo, tanto no lote C1 e C2 verifica-se que os mesmos apresentaram valores inferiores ao mexilhão *P. perna* cultivado por Marenzi e Branco (2006) que após 6 meses (180 dias) de cultivo apresentou comprimento médio superior a 60 mm (8 meses de cultivo $L = 77$ mm).

Contudo o crescimento do *M. galloprovincialis* cultivado na Enseada de Zimbros apresentou um melhor desempenho considerando apenas o crescimento com o *Mytilus edulis platensis* no Golfo San José (Argentina). Pois de acordo com Zaixso e Lizzaralde (2001) os mitilídeos cultivados no período de 6 meses (180 dias) obtiveram um comprimento médio final de 51,47 mm e após 9 meses (270 dias) de cultivo alcançaram 61,94 mm de comprimento médio.

De acordo com Marenzi e Branco (2006) a taxa de incremento mensal para o mexilhão *Perna perna* registrada foi de 5,8 mm por mês, já para o presente estudo foi determinado um crescimento mensal de $4,15 \pm 1,53$ mm de comprimento em todos os períodos avaliados. A maior taxa de incremento para a espécie foi observada durante a estação da primavera onde os mexilhões em estágio inicial de cultivo (lote C2) apresentaram taxa de crescimento mensal de $4,96 \pm 3,88$ mm já a menor taxa relatada, foi no segundo período de cultivo do lote C2 (dezembro a março) onde teve um crescimento médio mensal de $3,82 \pm 1,23$ mm de comprimento.

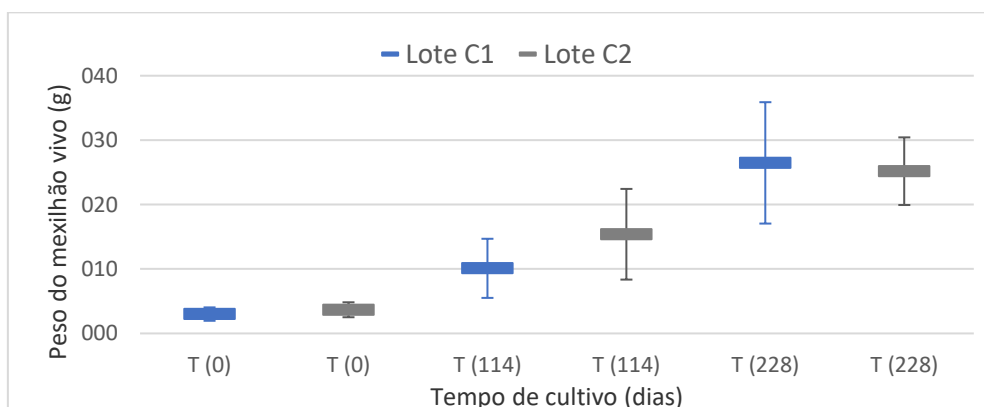
Figura 7. Crescimento em comprimento da concha (mm) do *M. galloprovincialis* cultivado em diferentes períodos (Lote C1 com início outono e Lote C2 com início inverno). As barras verticais indicam o desvio-padrão e as barras horizontais destacadas em azul e cinza indicam a média.



Fonte: Pesquisa de Campo.

O peso total do mexilhão (Figura 8) apresentou diferença significativa entre os lotes no período de 114 dias ($p = 1,789e-07$), apresentando média de $10,10 \pm 4,59$ g no lote C1 e $15,39 \pm 7,04$ g para o lote C2. Entretanto posteriormente ao desdobre os mexilhões do lote C1 e C2 não apresentaram diferença significativa ($p = 0,6668$) com média de $26,47 \pm 9,42$ e $25,18 \pm 5,25$ g respectivamente. Desta forma ao final do cultivo o *M. galloprovincialis* teve acréscimo médio de 22,48 g, sendo superior ao encontrado para o *P. perna* por Marenzi e Branco (2006), onde os mexilhões obtiveram em 8 meses de cultivo 20,6 g.

Figura 8. Peso total (g) do *M. galloprovincialis* cultivado em diferentes períodos (Lote C1 com início no outono e Lote C2 com início no inverno). As barras verticais indicam o desvio-padrão e as barras horizontais destacadas em azul e cinza indicam a média.

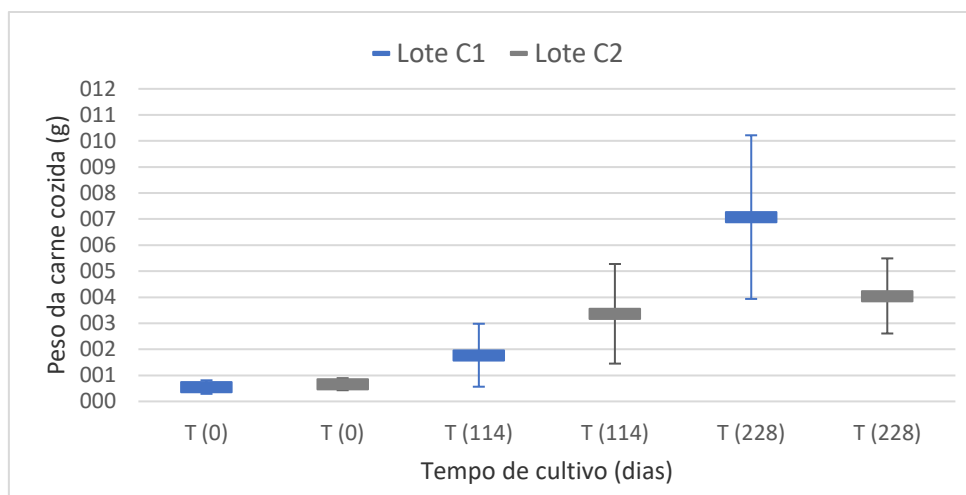


Fonte: Pesquisa de Campo.

O peso da carne cozida (Figura 9) apresentou diferença significativa nos dois períodos avaliados ([114 dias, $p = 6,085e-09$] e [228 dias, $p = 3,729e-11$]), onde após 228 dias de cultivo apresentou médias $7,08 \pm 3,14$ e $4,05 \pm 1,44$ g para o lote C1 e C2 respectivamente. Esse valor foi inferior ao encontrado por Oliveira (2016) em cultivo experimental realizado em Penha (SC), em sistema de monocultivo e multitrófico, onde os mexilhões da espécie *P. perna*, obtiveram em 7 meses (210 dias) de cultivo o peso médio de carne cozida de $7,85 \pm 3,10$ g.

As diferenças encontradas entre os lotes podem estar diretamente relacionadas ao índice de condição, pois os organismos com maiores pesos de carne tendem a estar com a gônada formada e próxima a liberação no ambiente. Sendo assim devido às análises não serem realizadas nos mesmos períodos do ano e em condições ambientais similares podem ocasionar variabilidade no peso dos mexilhões (MARQUES, 2008).

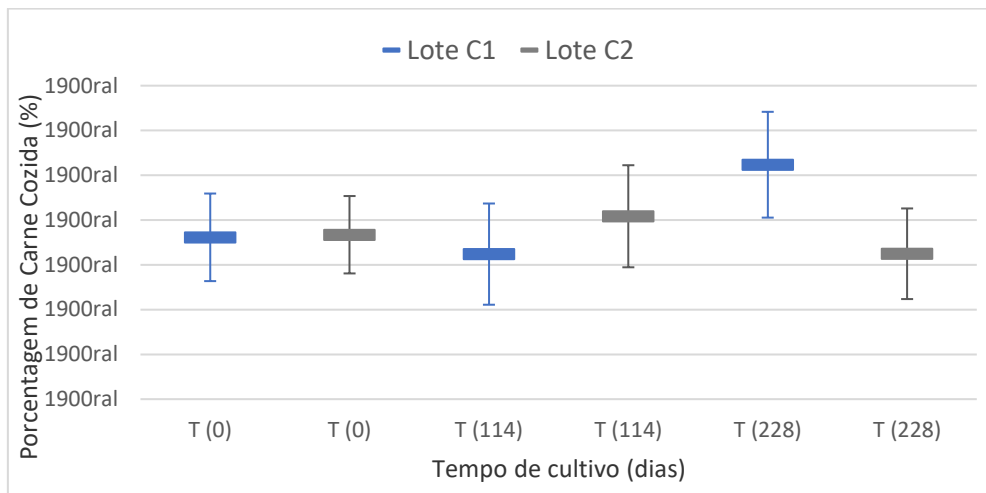
Figura 9. Peso da carne cozida (g) do *M. galloprovincialis* cultivado em diferentes períodos (Lote C1 com início no outono e Lote C2 com início no inverno). As barras verticais indicam o desvio-padrão e as barras horizontais destacadas em azul e cinza indicam a média.



Fonte: Pesquisa de Campo.

Os percentuais médios de carne cozida verificada para a espécie *M. galloprovincialis*, variaram entre 16,2% e 26,2% para o lote C1, enquanto os mexilhões do lote C2 apresentaram PCC médio variando de a 16,2 a 20,4% sendo que ambos os maiores percentuais foram observados em dezembro totalizando 228 dias de cultivo no lote C1 e 114 dias no lote C2 (Figura 10).

Figura 10. Percentual de carne cozida (%) do *M. galloprovincialis* cultivado em diferentes períodos (Lote C1 com início no outono e Lote C2 com início no inverno). As barras verticais indicam o desvio-padrão e as barras horizontais destacadas em azul e cinza indicam a média.



Fonte: Pesquisa de Campo.

Os valores obtidos de PCC, principalmente para o Lote C1, foram próximos aos encontrados por Silva (2007) para a espécie *Perna perna* no município de Bombinhas, que apresentou o PCC variando entre 13 a 31 % e para outras localidades do Estado de Santa Catarina, durante o ano de 2005/2006, onde percentuais variando de 14 a 32% em Governador Celso Ramos, 18 a 30% para Palhoça, 13 a 30% no município de Sambaqui e 10 a 25% para São Francisco do Sul. No Estado de Rio de Janeiro, especificamente na Ilha Bela, Silvestri (2018) registrou para o *Perna perna* o maior valor do percentual de carne cozida de 19,3 % no final de julho e os menores de 12,1 e 12,3% nos meses de maio e outubro respectivamente.

De maneira comparativa os PCC encontrados estão próximos aos encontrados para a espécie *Perna perna* por Silva (2007) e Silvestri (2018). De acordo com Ferreira & Magalhães (2004) os mexilhões da espécie *P. perna* em estágio de maturação apresentando os folículos cheios (estágio III-A) podem apresentar 35 a 40% de carne cozida em relação ao peso total. Destaca-se que alguns indivíduos de *M. galloprovincialis* no presente trabalho apresentaram valores entre 40 a 42% de PCC, durante a estação de primavera no lote C1 (228 dias).

Vale ressaltar que os valores médios determinados de PCC no presente trabalho podem não demonstrar o verdadeiro potencial da espécie, devido ao intervalo entre as amostragens, tendo a possibilidade de os mexilhões terem realizado alguma desova parcial entre estes períodos.

Outro fator observado, que pode ter influenciado na diminuição do valor médio do percentual de carne cozida em pequena escala foi a incidência do crustáceo da família Pinnotheridae encontrado em 3% das amostras de *Mytilus galloprovincialis* (Figura 11).

Figura 11. Decapodas Pinnotheridae encontrado no interior das conchas do mexilhão *Mytilus galloprovincialis*.



Fonte: Autor.

CONCLUSÕES

O mexilhão *Mytilus galloprovincialis* apresentou o melhor desenvolvimento no período de 114 dias de cultivo do lote C2 iniciado no mês de agosto durante a estação de inverno. Já em 228 dias de cultivo o lote C1 apresentou os melhores crescimentos. Contudo, ressalta-se a mortalidade dos organismos maiores do lote C2 durante o período pós-desdobre.

A melhor sobrevivência observada foi no cultivo que teve início na estação do outono (lote C1), seguido do lote iniciado na estação do inverno.

Nos cultivos iniciados nas estações de primavera e verão os organismos não sobreviveram devido a mortalidade possivelmente ocasionada pelo estresse fisiológico devido a temperaturas elevadas (>28° C) e predação das sementes no período inicial dos cultivos.

O percentual médio da carne cozida do *M. galloprovincialis* apresentou variabilidade durante as análises; variações essas que podem estar associadas a desovas parciais, anteriormente à avaliação.

O *Mytilus galloprovincialis* cultivado no presente estudo, apresentou valores inferiores em comprimento e peso da carne cozida, quando comparado com o *Perna perna*. Entretanto apresenta o peso do organismo vivo maior, mesmo tendo tamanho inferior ao mitilídeo comparado.

Os valores médios de PCC do *M. galloprovincialis* foram inferiores aos registrados para o *P. perna*. Contudo individualmente foram registrados valores superiores, indicando que caso seja realizado um monitoramento de maneira mais contínuo, o rendimento da carne em relação ao peso vivo do *M. galloprovincialis* pode ser superior ao verificado para o *P. perna* que é a principal espécie de mitilídeo cultivado no Brasil.

O *Mytilus galloprovincialis* apresentou potencial para o cultivo, contudo recomenda-se que os cultivos sejam iniciados no outono e as colheitas realizadas antes do verão.

REFERÊNCIAS

BELZ, C. E.; SIMONE, L. R. L., SILVEIRA JÚNIOR, N. BAGGIO, R. A., GERNET, M. V., & BIRCKOLZ, C. J. **First record of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia, Mytilidae) in Brazil**. Papéis Avulsos de Zoologia, 60, e20206007. Epub February 14, 2020. <https://doi.org/10.11606/1807-0205/2020.60.07>. 2020

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico de pesca e aquicultura do Brasil, 2013**. Brasília. Disponível em <http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/estatistica/est_2011_bol__bra.pdf>. Acesso em 20 nov. 2018.

COUTO, F. R.; SILVEIRA JUNIOR, N.; BROGNOLI, F.; FISCHER, C. E.; ALMEIDA, M.; WOLFF, R. **Expressivo recrutamento de *Mytilus edulis platensis* d'Orbigny, 1846**. In: Congresso Brasileiro de Oceanografia, 3, 2008, Fortaleza. Anais. 1 CD-ROM. CBO 2008

EPAGRI. **Síntese Informativa da Maricultura, 2017**. Florianópolis, 28 de junho de 2018.

FAO. **Fichas de espécies aquáticas cultivadas *Mytilus edulis***. Roma. 2009. Disponível em: http://www.fao.org/tempref/FI/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_bluemussel.htm>. Acesso em 02 maio 2019.

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016: contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos**. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura p. 224, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Roma, 2016.

FERREIRA, J. F.; MAGALHÃES, A. R. M. **Cultivo de mexilhões**. In: POLI, C. R. *et al.* (Org.). **Aquicultura: experiências brasileiras**. Florianópolis, SC: Multitarefa, 2004. p. 221-250.

FERREIRA, J. F.; MARENZI, A.W.C.; OLIVEIRA NETO, F.C. **Coletores de sementes de mexilhão - opção do miticultor catarinense para retomar o crescimento da produção**. Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro, v. 16, n. 96, p. 43-48, 2006. Disponível em: <<https://panoramadaaquicultura.com.br/coletores-de-sementes-de-mexilhao/>>. Acesso em: 15 maio 2019.

KREBS, C. J. **Sampling designs - random sampling, adaptive and systematic sampling**. In: KREBS, C. J. **Ecological methodology**, Vancouver: Second, 2014. 3 ed., p. 325-378. Disponível em: <<https://www.zoology.ubc.ca/~krebs/books.html>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

MAGALHÃES, A. R. M.; FERREIRA, J. F.; SILVEIRA JUNIOR, N. **Ocorrência de *Mytilus edulis platensis* Orbigny, 1846 (Bivalva: Mytilidae) no litoral de Santa Catarina**. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE MALACOLOGIA, 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Malacologia, 1993. p. 33.

MANZONI G. C. **Cultivo de mexilhões *perna perna*: evolução da atividade no Brasil e avaliação econômica da realidade de Santa Catarina**. 255 f. Tese (Doutorado em Aquicultura). Universidade Estadual Paulista, 2005.

MARENZI, A. W. C.; BRANCO, J. O. O cultivo do mexilhão *Perna perna* no município de Penha, SC. In: BRANCO, J. O.; MARENZI, A. W. C. (Org.). **Bases ecológicas para um desenvolvimento sustentável: estudos de caso em Penha, SC**. Itajaí: Editora Univali, 2006. p. 227- 244.

MARENZI, A. W. C.; FERREIRA, J.F.; MARQUES, H.; OLIVEIRA NETO, F.M.; MANZONI, G.C., A e. Cultivo de mexilhão *Perna perna*. In: RESGALLA JUNIOR, C. *et al.* **O Mexilhão *Perna perna* (L): Biologia, ecologia e aplicações**. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 169-182.

MARQUES, H. L. A.; BORDON, I. C. A. C.; ALVES, J. L.; MEDEIROS, A. M. Z. **Produção de mexilhões jovens (sementes) por maricultores da praia da Cocanha, Caraguatatuba (SP)**. Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária. p. 87-93 dez. 2008.

MÖLLER JR, O. O. **The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America**. **Continental Shelf Research**, Rio Grande do Sul, v. 28, p. 1607-1624, 2008.

OLIVEIRA, G. B. **Desenvolvimento dos moluscos: *Perna perna* e *Nodipecten nodosus*, em sistemas de monocultivo e multitrófico na Armação do Itapocoroy (Penha-SC)**. Monografia (Graduação em Oceanografia). 39 f. Universidade do Vale de Itajaí. Itajaí, 2016.

PENCHASZADEH P. E. **Biología del mejillon *mytilus platensis*, su explotación pesquera y perspectivas de cultivo de mitilidos en argentina**. Instituto de Biología Marinha, Mar del Plata, [1975]. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/AC866S/AC866S16.htm>>. Acesso em: 18 maio 2019.

PROENÇA, L. A. O., **Clorofila-a do fitoplâncton em seis enseadas utilizadas para o cultivo de moluscos bivalves no litoral de Santa Catarina**. Notas Técnicas Facimar, v. 6, p. 33-44, 2002.

RIOS, E., C. Bivalvia: *Mytilus edulis platensis*. In: **Compendium of Brazilian Sea shells**. Rio Grande do Sul: Evangraf, . 481pg. 2009,

SCHETTINI, C. A. F.; CARVALHO, J. L. B. **Hidrodinâmica e distribuição de sedimentos em suspensão dos estuários dos rios Itapocu, Tijucas e Camboriú**. Notas Técnicas FACIMAR, v. 2, p. 141-153, 1998.

SILVA, R. T. **Obtenção de sementes e ciclo reprodutivo do mexilhão *Perna perna* (L.) em áreas de produção do estado de Santa Catarina**. 41 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

SILVESTRI, F., CORDEIRO, G. B., COSTA, P. M. S. **Parâmetros reprodutivos do mexilhão *Perna perna* (L. 1758) em fazendas marinhas na Ilha Grande (RJ)**. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, Sergipe, v. 6, p. 43-49, 2018. Disponível em: <<https://seer.ufs.br/index.php/ActaFish/article/download/8486/7249>>. Acesso em: 18 abril 2019.

SUPLICY, F. M. **Efeito da densidade inicial de cultivo sobre a produtividade de mexilhões *Perna perna* em Santa Catarina**. Agropecuária Catarinense, v. 31, p. 77-81, 2018.

VALENTI, W. C. **Aquicultura no Brasil: Bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. 399 p.

ZAIOSO, H. E.; LIZARRALDE, Z. L. **Efectos del desdoble sobre la biomasa cosechable de *Mytilus platensis* d'Orb. en cultivo**. Investigación y Desarrollo Pesquero, Buenos Aires, n. 14, 2001. Disponível em: <https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/1865/Rev%20Invest%20Desarr%20Pesq%2014%20109-123.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 18 abril 2018.

EFEITOS DO NÍVEL DE INCLUSÃO E GRAU DE HIDRÓLISE DE HIDROLISADO PROTEICO DE PEIXE EM DIETAS PARA PÓS-LARVAS DE TILÁPIA-DO-NILO

Herivelto Beck de Souza¹; Janaina Fernanda Rossetto²; Débora Tatyane Oliveira Xavier³; Grace Kelly Goudinho Pires⁴; Altevir Signor⁵.

RESUMO

Neste estudo foi avaliado a influência de hidrolisados proteicos de resíduo de peixes (HPP) com dois níveis de inclusão e três condições de grau de hidrólise (GH) no desempenho produtivo e respostas histológicas em pós-larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Um total de 3150 pós larvas de tilápia-do-Nilo ($0,02 \pm 0,01$ g) foram distribuídas em delineamento fatorial (2×3) com uma testemunha em 21 aquários com volume útil de 120L, totalizando sete tratamentos com três repetições. Os peixes foram alimentados até saciedade aparente seis vezes ao dia durante quatro semanas, com dietas sem a inclusão de HPP (controle), três dietas contendo níveis de inclusão de 4,75% para cada HPP (HPP1, HPP2, HPP3) e GH de 16,28%, 22,43% e 28,56%, respectivamente, e outras três com metade da inclusão de cada um dos HPP's. Efeitos interativos foram observados para o desempenho produtivo. A inclusão de 2,375% do HPP com GH 28,56% proporcionou um incremento de 13,57% na performance produtiva e melhoria na taxa de eficiência proteica das pós-larvas de tilápia-do-Nilo. Os HPP's têm influência na altura, espessura e largura das vilosidades intestinais para pós-larvas de tilápia-do-Nilo, sugerindo-se uma adaptação dos peixes para maior capacidade de absorção de nutrientes provenientes da elevada carga de aminoácidos livres disponibilizada, devendo-se atentar a saturação do sistema digestivo larval. O GH dos HPP's apresenta efeito significativo em relação ao fígado das pós-larvas, possibilitando alterações na quantidade, na área e volume dos hepatócitos e diâmetro de seus núcleos.

Palavras-chave: Nutrição. Ingrediente alternativo. Carcaça de tilápia. Hidrólise enzimática. Histologia.

ABSTRACT

In this study, the influence of protein hydrolysates from fish residue (HPP) with two levels of inclusion and three conditions of the degree of hydrolysis (GH) on the productive performance and histological responses in post-larval tilapia larvae was evaluated. Nile (*Oreochromis niloticus*). A total of 3150 post-Nile tilapia larvae (0.02 ± 0.01 g) were distributed in a factorial design (2×3) with one control in 21 aquariums with a useful volume of 120L, totaling seven treatments with three replications. The fish were fed until apparent satiety six times a day for four weeks, with diets without

¹ Doutorando em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná. <http://lattes.cnpq.br/9582428834956874>. heriveltobeck1994@gmail.com.

² Graduada em Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná. <http://lattes.cnpq.br/3311168400157565>. janainarossetto8274@gmail.com.

³ Doutoranda em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná <http://lattes.cnpq.br/5002598521228902>. deboraaquicultura@gmail.com.

⁴ Doutoranda em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná <http://lattes.cnpq.br/5002598521228902>. deboraaquicultura@gmail.com.

⁵ Doutoranda em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná <http://lattes.cnpq.br/5002598521228902>. deboraaquicultura@gmail.com.

the inclusion of HPP (control), three diets containing 4.75% inclusion levels for each HPP (HPP1, HPP2, HPP3) and GH of 16.28%, 22.43%, and 28.56%, respectively, and three others with half the inclusion of each of the HPP's. Interactive effects were observed for the productive performance. The inclusion of 2.375% of the HPP with GH 28.56% provided an increase of 13,57% in the productive performance and improvement in the protein efficiency rate of Nile tilapia post-larvae. The HPP's influence the height, thickness and width of the intestinal villi for post-larval Nile tilapia larvae, suggesting an adaptation of the fish for a greater capacity for absorbing nutrients from the high load of free amino acids available, and pay attention to the saturation of the larval digestive system. The HPP's GH has a significant effect on the liver of the post-larvae, allowing changes in the quantity, area and volume of hepatocytes and the diameter of their nuclei. By obtaining combinations between the level of inclusion and the degree of hydrolysis of protein hydrolysates in early stages for fish, it is possible to develop nutritional strategies to ensure that changes in the diet will not induce significant metabolic disturbances that could compromise the fish's zootechnical performance in the long term.

Keywords: Nutrition. Alternative ingredient. Tilapia carcass. Enzymatic hydrolysis. Histology.

INTRODUÇÃO

A parcela de contribuição da aquicultura mundial para a produção mundial de peixes tem aumentado de maneira constante, representando 46,0% no período de 2016 a 2018 (FAO, 2020). O crescimento da aquicultura vem sendo maior a cada ano, por consequência, a demanda por disponibilidade de água e um criterioso manejo dos organismos aquáticos, seja do ambiente de criação, seja da nutrição, explorando novas tecnologias que melhorem a qualidade nutricional dos alimentos.

De acordo com FAO (2020), houve um incremento do processamento do pescado, com isso um aumento das quantidades de subprodutos, sendo estes cada vez mais utilizados como fontes proteicas para rações. Por consequência disso, fontes alternativas oriundas de processos industriais que favoreçam características nutricionais da ração são utilizadas como forma de atender às exigências nutricionais dos peixes (SIGNOR et al., 2012; MORO, 2015; DECARLI et al., 2016; SILVA et al., 2017).

A produção de larvas e alevinos em quantidade e qualidade, para atender à demanda cada vez maior pela crescente expansão da piscicultura, depende de soluções eficientes para os problemas existentes nos processos de criação. Dentre os fatores responsáveis pelos insucessos na larvicultura destaca-se, como principal, o fator alimentação (CESTAROLLI et al., 1997). Devido ao melhor perfil de aminoácidos e aos minerais disponíveis nos produtos de origem animal em dietas para

peixes, principalmente para as fases iniciais, recomenda-se que parte da proteína disponibilizada seja de origem animal, para que se tenham índices de desempenho satisfatórios (NRC, 2011).

A principal fonte de proteína nas rações de tilápia é a farinha de peixe, por possuir características nutricionais proteicas. No entanto, pesquisas para a diminuição do uso ou substituição total da farinha de peixe estão sendo realizadas a fim de possibilitar a fabricação de uma ração que contenha matérias primas de baixo custo, alto valor nutricional, com boa digestibilidade, refletindo assim em melhores ganhos produtivos (SIGNOR et al., 2012; MORO, 2015; SILVA et al., 2017). Neste sentido, subprodutos das indústrias de abate da produção animal são cada vez mais utilizados como fontes proteicas para rações, utilizados de forma eficiente com tecnologias de processamento (DECARLI et al., 2016; SILVA et al., 2017).

Estudos recentes demonstram que a inclusão de hidrolisados proteicos de pescado apresentam-se como uma excelente fonte de proteína, com bom valor nutritivo para peixes, inclusive em fases iniciais de vida, utilizados em tuna (*Lates calcarifer*), pargo (*Pagrus major*), tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), bagre africano (*Clarias gariepinus*), turbot (*Scophthalmus maximus*) (CHOTIKACHINDA et al., 2013; KHOSRAVI et al., 2015; SILVA et al., 2017; SWANEPOEL & GOOSEN, 2018; WEI et al., 2020). Tais ingredientes são obtidos por meio da digestão prévia das proteínas presentes na matéria-prima pelo processo de hidrólise enzimática, ou seja, realiza-se a adição de proteases, em condições ótimas de temperatura e pH, ocorrendo a fragmentação da proteína em aminoácidos e peptídeos de baixo peso molecular, possibilitando uma maior absorção dessas partículas pelos peixes (ZARAVEZE et al., 2009). Este processo tem sido utilizado com a finalidade de melhorar as propriedades físicas, químicas e funcionais dos alimentos (LEWANDOWSKI et al., 2013a).

Os hidrolisados apresentam um considerável valor nutritivo para serem adicionados em rações para alimentação de organismos aquáticos, devido a sua excelente fonte proteica, com alta quantidade de peptídeos de cadeia curta, aminoácidos livres e compostos bioativos (SILVA, 2017). A qualidade dos hidrolisados dependem da proteína utilizada como matéria-prima, do grau de hidrólise e do método hidrolítico (KOTZAMANIS et al., 2007). O grau de hidrólise (GH) é a medida utilizada para mensurar a fragmentação da proteína em peptídeos de tamanhos menores, que expressa a relação entre a quantidade de proteínas totais e a quantidade de proteínas

solúveis. O GH é determinado a partir dos métodos de Kjeldahl e Lowry et al., (1951) que demonstram a eficiência do processo hidrolítico (ALVES et al., 2015), ou seja, é o parâmetro bioquímico relevante na proteólise, pois o grau de hidrólise afeta certas propriedades do produto, como viscosidade, solubilidade, características sensoriais e funcionais, além da partição das proteínas. Estes, que por sua vez, influenciam a capacidade de absorção e taxa de passagem da dieta através do trato gastrointestinal. (KOTZAMANIS, et al., 2007; NGUYEN et al., 2011).

Segundo Honorato (2011), os peixes apresentam capacidade de adaptação dos processos digestivos relacionados ao transporte de nutrientes. Portanto, a análise da morfologia intestinal torna-se essencial, visto ser um órgão envolvido em importantes funções fisiológicas. Como exemplo cita-se a avaliação microscópica da morfologia das suas vilosidades, em que a musculatura intestinal pode atuar como indicativo de desempenho nutricional de acordo com as alterações no tecido que revelam sobre a capacidade de absorção dos nutrientes pelos peixes (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2005; BALDISSEROTO et al., 2009; CARVALHO et al., 2011). Outro órgão considerado crucial para o metabolismo de nutrientes é o fígado, sendo um ótimo indicador para patologias nutricionais (FUJIMOTO et al. 2008, RAŠKOVIĆ et al. 2011). O fígado é um órgão altamente suscetível às mudanças no estado nutricional de peixes, e a qualidade da dieta interfere diretamente na sua estrutura histomorfológica (BRUSLÉ & ANADON 1996).

Ao avaliar hidrolisado proteico de peixes em dietas para pós-larvas de tilápia-do-Nilo, Silva et al. (2017) observaram que o melhor desempenho produtivo para pós-larvas foi na inclusão de 4,75% deste aditivo na dieta, no entanto, não foram avaliados parâmetros histológicos. A partir disto, o presente trabalho objetivou-se em avaliar possíveis interações entre o nível de inclusão e condições de grau de hidrólise e suas influências no desempenho produtivo e respostas histológicas advindas de hidrolisados proteicos de peixes (HPP's) em dietas de pós-larvas de tilápia-do-Nilo.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ) na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), campus de Toledo/PR, Brasil com duração de 30 dias. Os procedimentos adotados na condução deste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/Protocolo Nº 16/19).

Elaboração das rações experimentais

Os hidrolisados proteicos de peixes, cuja matéria-prima foi carcaça de tilápia-do-Nilo, aplicados no presente estudo possuíram os seguintes graus de hidrólise: 16,28%, 22,43%, e 28,56%, sendo HPP1, HPP2 e HPP3, respectivamente. Foram elaboradas sete rações experimentais, sendo a dieta basal, T1: controle (sem a adição do HPP) controle e os níveis de inclusão dos hidrolisados proteicos de peixes obtidos após a hidrólise enzimática: T2: 4,75% do HPP1, T3: 4,75% do HPP2, T4: 4,75% do HPP3, T5: 2,37% do HPP1 (MH1), T6: 2,37% do MH2 (MH2) e T7: 2,37% do HPP3 (MH3). As rações foram formuladas de maneira a serem isoproteicas e isoenergéticas para atenderem os valores nutricionais recomendados para a espécie, na fase de desenvolvimento em que se encontravam. O cálculo da quantidade de inclusão do hidrolisado líquido nas dietas foi baseada na matéria seca do produto, considerando-se os resultados obtidos por Silva et al. (2014) (Tabela 1).

Todos os ingredientes foram inicialmente triturados (0,3 mm) em um moinho tipo martelo (modelo MCs 280, Vieira Moinhos e Martelo, Tatuí-SP, Brasil), e peneirados. Após isso, seguiu-se o procedimento de homogeneização durante o período de 15 minutos em um misturador mecânico do tipo “Y” (modelo MA 200, Marconi Equipamentos Laboratórios, Piracicaba-SP, Brasil).

Tabela 1. Formulação das dietas utilizadas no experimento de desempenho produtivo de pós-larvas de tilápia-do-Nilo contendo hidrolisados proteicos de tilápia com diferentes graus de hidrólise.

Ingredientes (%)	Níveis de suplementação do hidrolisado proteico com diferentes Graus de Hidrólise ¹						
	Controle	HPP1	HPP2	HPP3	MH1	MH2	MH3
Farelo de soja 45	49,22	54,58	54,58	54,58	51,61	51,61	51,61
Peixe Farinha tilápia	23,78	20,01	20,01	20,01	21,89	21,89	21,89
Arroz quirera	13,43	8,20	8,20	8,20	10,82	10,82	10,82
Milho Far. Glúten	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16
Ingrediente Teste	0,00	4,75	4,75	4,75	2,38	2,38	2,38
Óleo de soja	3,39	1,46	1,46	1,46	2,42	2,42	2,42
Suplemento min. e vit. ²	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Cloreto de sódio	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Vit. C	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloreto de colina	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Antifúngico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
L-treonina	0,04	0,00	0,00	0,00	0,02	0,02	0,02
Fosfato bicálcico	0,01	0,36	0,36	0,36	0,19	0,19	0,19
Calcário	0,00	0,50	0,50	0,50	0,25	0,25	0,25
Nutrientes (%) ³							
Amido	17,38	14,15	14,15	14,15	15,77	15,77	15,77
Arginina total	3,01	2,98	2,98	2,98	2,99	2,99	2,99
Histidina total	0,98	0,99	0,99	0,99	0,98	0,98	0,98
Isoleucina total	1,78	1,80	1,80	1,80	1,79	1,79	1,79
Leucina total	3,61	3,62	3,62	3,62	3,61	3,61	3,61

Lisina total	2,34	2,48	2,48	2,48	2,41	2,41	2,41
Metionina total	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Triptofano total	0,45	0,48	0,48	0,48	0,46	0,46	0,46
Valina total	1,95	1,94	1,94	1,94	1,95	1,95	1,95
Fenil total	2,04	2,06	2,06	2,06	2,05	2,05	2,05
Fosforo total	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Cálcio	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Composição química (% Matéria Seca) ⁴							
Matéria Seca	96,79	97,74	96,25	95,42	97,18	97,44	95,09
Matéria Mineral	14,23	12,96	12,86	12,83	13,83	13,77	13,38
Proteína Bruta	34,88	37,52	32,39	37,95	34,10	39,29	36,02
Estrato Etéreo	5,59	6,57	9,01	7,14	6,12	5,40	8,83
Fibra bruta	2,77	3,03	3,03	3,03	2,90	2,90	2,90
Energia Bruta (Kcal Kg ⁻¹)	4370	4500	4880	5010	4780	4870	4990

¹HPP1: 4,750% de inclusão do hidrolisado com grau de hidrólise de 16,28%; HPP2: 4,750% de inclusão do hidrolisado com grau de hidrólise de 22,43% e HPP3: 4,750% de inclusão do hidrolisado com grau de hidrólise de 28,56%, MH1: 2,375% de inclusão do hidrolisado com grau de hidrólise de 16,28%, MH2: 2,375% de inclusão do hidrolisado com grau de hidrólise de 22,43% e MH3: 2,375% de inclusão do hidrolisado com grau de hidrólise de 28,56%. ² Suplemento mineral e vitamínico - Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.750.000UI; Vit. D3, 375.000UI; Vit. E, 20.000UI; Vit. K3, 500mg; Vit. B1, 2.000mg; Vit. B2, 2.500mg; Vit. B6, 2.500mg; Vit. B12, 5.000mg; Ac. Fólico, 625mg; Pantotenato Ca, 7.500mg; Vit. C, 37.500mg; Biotina, 50mg; Inositol, 12.500mg; Niacina, 8.750mg; Co, 50mg; Cu, 1.250mg; Fe, 15.000mg; I, 100mg; Mn, 3.750mg; Se, 75mg; Zn, 17.500mg. ³ Valores calculados na formulação. ⁴Valores analisados. Fonte: Autores.

As dietas foram então extrusadas, com umidade de 20%, em matriz de 1,0 mm de diâmetro em um equipamento modelo Ex-Micro[®] com capacidade de 10 kg.h⁻¹ (Exteec Máquinas, Ribeirão Preto-SP, Brasil). Após a extrusão, as dietas foram alocadas em estufa ventilada por 24h a 55°C (modelo TE-394/3-D, Tecnal Equipamentos Científicos para Laboratórios, Piracicaba-SP, Brasil). Após secagem (55°C por 24h), incorporou-se óleo de soja, na forma de banho com auxílio de pulverizador manual. As dietas foram armazenadas em câmara fria (4°C) até sua utilização.

Delineamento Experimental

O experimento foi efetivado sob condições laboratoriais, utilizando 3.150 exemplares de tilápia-do-Nilo com peso inicial médio de $\mu = 0,02 \pm 0,01g$ e comprimento total e padrão de $1,08 \pm 0,02cm$. Proveniente de piscicultura comercial e previamente aclimatado por sete dias. Os animais foram distribuídos em delineamento fatorial 2x3 (nível de inclusão de HPP de 2,375% e 4,750%; GH 16,28%, 22,43%, e 28,56%) com uma testemunha, em 21 caixas de polietileno com volume útil para 210 litros, em sete tratamentos com três repetições, totalizando 150 animais por unidade experimental, 450 por tratamento.

Realizou-se o arraçamento seis vezes ao dia (08h00, 10h00, 12h00, 14h00, 16h00 e 18h00), até a saciedade aparente. Ao final do dia, as excretas e restos

alimentares e filtros foram sifonados. O sistema foi equipado com recirculação de água, filtro mecânico, sistema de aeração e aquecimento constante e realizou-se sifonamentos diários. Durante o período experimental, variáveis físicas e químicas da água foram monitoradas utilizando um multiparâmetro portátil (modelo YSI-PRO PLUS), para mensuração de temperatura ($\mu=27,27\pm0,15^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido saturado ($\mu=37,55\pm2,06\%$), oxigênio dissolvido ($\mu=2,95\pm0,17\text{ mg/L}$), condutividade elétrica ($\mu=185,69\pm1,2\ \mu\text{.S/cm}$) e pH ($\mu=6,95\pm0,03$), observando-se que as taxas de oxigênio foram menores que os limites estabelecidos como satisfatórios para o cultivo de peixes tropicais de água doce (ARANA et al., 2004), porém, não houve interferência em relação a sobrevivência e taxa de alimentação para as pós-larvas de tilápia-do-Nilo.

Ao final do período experimental, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas e, após este período, foram eutanasiados em solução de benzocaína 100 mg.L^{-1} (OKAMURA et al., 2010) para a determinação de medidas individuais de peso (g) e comprimento total (cm) e coleta de órgãos (estômago, intestino e fígado) para futuras análises. Os cálculos de desempenho zootécnico foram determinados pelas seguintes equações (NRC, 2011): Ganho em peso (GP) = (peso final - peso inicial); Ganho em peso diário (GPD) = (peso final - peso inicial)/tempo (dias); Conversão alimentar aparente (CAA) = consumo de alimento/ganho em peso total; Taxa de crescimento específico (TCE) = $(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) \times 100/\text{tempo}$; Taxa de eficiência proteica (TEP) = ganho em peso vivo/proteína bruta consumida e Sobrevivência (S).

Análises histológicas

Para as análises histomorfométricas das vilosidades intestinais, três peixes de cada caixa foram eutanasiados em solução de benzocaína 100 mg.L^{-1} (OKAMURA et al., 2010) sendo retirado um segmento transversal da porção medial dos intestinos de cada peixe e o uma porção do fígado, posteriormente fixados em solução Alfac durante seis horas e conservadas em álcool 70° para remoção do fixador até serem processadas.

Os tecidos foram desidratados em concentrações crescentes de álcoois, clarificados em xilol e incluídos em parafina. Os cortes histológicos foram obtidos por secções seriadas de $7\mu\text{m}$ e coradas em Hematoxilina-Eosina (HE). As amostras de intestino (Figura 1) foram analisadas em microscopia de luz, mensurando a altura dos vilos (distância do topo das vilosidades ao início da camada muscular), largura dos vilos (distância do topo de um enterócito ao topo do enterócito do lado oposto),

espessura dos vilos (distância entre as extremidades dos enterócitos) e espessura da túnica (distância total da camada muscular circular e longitudinal) na lente objetiva de 40X. Já em relação as amostras de fígado (Figura 2), foram realizadas mensurações relacionadas a quantificação dos hepatócitos presentes por área delimitada pela lente objetiva de 40X e posteriormente, determinou-se o diâmetro, área e volume a partir de mensurações do raio dos hepatócitos na lente objetiva de 100X. Para ambas análises, utilizou-se o software cellSens Standard 1.15[®] para obtenção das imagens e posterior avaliação.

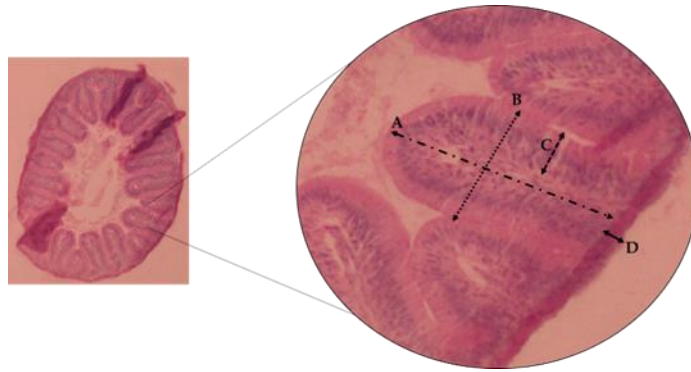


Figura 1. Parede do intestino medial de pós-larvas de tilápia-do-Nilo coradas em H.E. Mensurações da histomorfometria intestinal de pós-larvas de tilápia-do-Nilo para os diferentes níveis de inclusão de hidrolisado proteico de tilápia. (A) Altura da vilosidade; (B) Largura das vilosidades; (C) Espessura das vilosidades; e (D) Espessura da túnica. Fotografias realizadas na lente objetiva de 40x. Fonte: Autores.

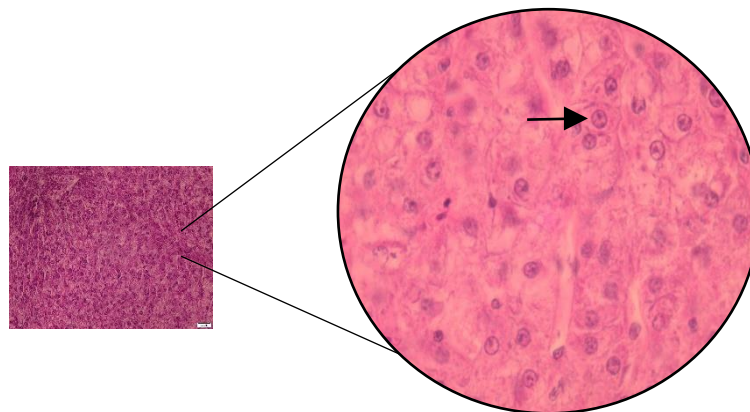


Figura 2. Corte histológico longitudinal do fígado de pós-larvas de tilápia-do-Nilo. (Seta) Hepatócito. Fotografias realizadas na lente objetiva de 40x e 100X. Fonte: Autores.

Análises estatísticas

Os dados referentes ao efeito dos fatores níveis de inclusão e grau de hidrólise para o desempenho produtivo e parâmetros histológicos, atendendo os pressupostos

de normalidade e homocedasticidade, foram submetidos à análise de variância ANOVA Fatorial para verificar a interação entre os fatores e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%, as médias foram comparadas com o grupo controle pelo teste de Dunnett a 5% de significância. As análises foram realizadas com o auxílio do software R Studio (versão 1.2.1335).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

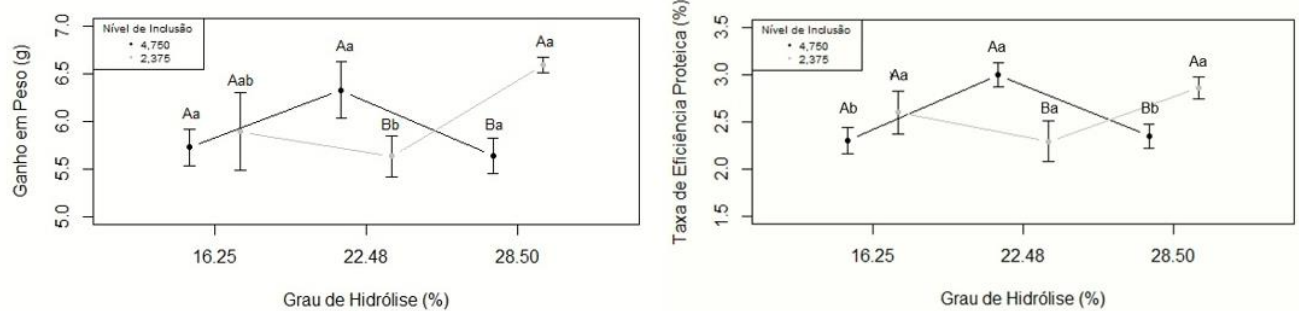
Para o desempenho produtivo (Tabela 2; Figura 3), quando usado o nível de inclusão de 4,750% do HPP os graus de hidrólise indicados para melhor ganho em peso foram para HPP1 e HPP2, já quando opta-se por realizar a inclusão de 2,375% do HPP, recomenda-se um maior grau de hidrólise, visto que o HPP3 apresentou melhores resultados em relação ao ganho em peso. Em relação a taxa de eficiência proteica (TEP), resultado satisfatório para a inclusão de 4,750% do HPP foi para o HPP2, e quando a dieta é suplementada em menor quantidade, observou-se o contrário, notando-se maior eficiência proteica para o HPP1 e HPP3. Maior nível de inclusão pode ser compensado e minimizado com a elevação do grau de hidrólise e melhor disponibilização de aminoácidos livres na dieta. Maior inclusão (4,750%) com menor grau de hidrólise, prejudica o ganho em peso de pós-larvas de tilápias, condições que reforça a importância do grau de hidrólise resultando em melhores desempenho produtivo com menor nível de inclusão.

Tabela 2. Valores de desempenho produtivo médios de pós-larvas de tilápia-do-Nilo, alimentados com rações suplementadas com hidrolisados proteicos de tilápia (HPP's) em diferentes graus de hidrólise.

Parâmetro	Tratamentos							p-valor
	Controle	HPP1	HPP2	HPP3	MH1	MH2	MH3	
¹ PI (g)	0,02±0,003	0,02±0,003	0,02±0,003	0,02±0,003	0,02±0,003	0,02±0,003	0,02±0,003	ns
² PF (g)	5,82±0,35	5,74±0,26 ^{Aa}	6,34±0,42 ^{Aa}	5,65±0,26 ^{Ba}	5,90±0,57 ^{Ab}	5,31±0,60 ^{Bb}	6,61±0,11 ^{Aa}	0,018
³ GP (g)	5,83±0,35	5,73±0,27 ^{Aa}	6,33±0,42 ^{Aa}	5,64±0,26 ^{Ba}	5,89±0,57 ^{Ab}	5,30±0,60 ^{Ab}	6,59±0,11 ^{Aa}	0,021
⁶ CAA	1,14±0,09	1,17±0,11	1,06±0,03	1,13±0,09	1,15±0,14	1,22±0,20	0,98±0,07	ns
⁷ TEP (%)	2,60±0,32	2,30±0,24 ^{Ab}	3,00±0,22 ^{Aa}	2,35±0,22 ^{Bb}	2,60±0,39 ^{Aa}	2,16±0,48 ^{Ba}	2,86±0,20 ^{Aa}	0,007
⁸ TCE	13,84±0,85	13,64±0,79	15,07±1,23	13,43±0,75	14,03±1,68	12,62±1,77	15,69±0,33	ns
⁹ S(%)	88,91±12,14	88,44±3,42	89,11±0,77	92,00±3,71	85,33±5,93	89,78±9,46	89,56±9,50	ns

Valores médios seguidos por letra maiúscula diferente, na mesma linha, indicam efeito significativo no fator nível de inclusão pelo teste de Tukey (P<0,05). Valores médios seguidos por letra minúscula diferente, na mesma linha, indicam efeito significativo no fator grau de hidrólise pelo teste de Tukey (P<0,05). ¹Peso Médio Inicial; ²Peso Médio Final; ³Ganho em Peso; ⁴Ganho em peso diário; ⁵Consumo de Ração; ⁶Conversão Alimentar Aparente; ⁷Taxa de Eficiência Proteica; ⁸Taxa de Crescimento Específico; ⁹Sobrevivência. Fonte: Autores.

Figura 3. Efeitos interativos entre o nível de inclusão e o grau de hidrólise de HPP's no desempenho produtivo de pós-larvas de tilápia-do-Nilo.



Valores médios seguidos por letra maiúscula diferente, na mesma linha indicam efeito significativo no fator nível de inclusão pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Valores médios seguidos por letra minúscula diferente, na mesma linha, indicam efeito significativo no fator grau de hidrólise pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Fonte: Autores.

No entanto, os estudos supracitados não relatam o grau de hidrólise dos hidrolisados testados, e o excesso de peptídeos dietéticos pode alterar a absorção de aminoácidos, aumentar o catabolismo e, conseqüentemente, podem reduzir a síntese proteica e a taxa de crescimento de peixes (RØNNESTAD et al., 2007; SRICHANUN et al., 2014). Os resultados favoráveis em relação ao ganho em peso (GP) e taxa de eficiência proteica (TEP) das pós-larvas de tilápia-do-Nilo suplementadas com HPP no presente estudo foram influenciados ($p < 0,05$) sugerindo que o HPP uma possível fonte de proteína funcional para implementação em dietas de pós-larvas de tilápia-do-Nilo.

O hidrolisado de peixe vêm sendo avaliado para diferentes espécies de peixes devido a sua eficiência e disponibilidade de nutrientes. Em estudos envolvendo tuna (*L. calcarifer*), observou-se conversão alimentar e taxa de crescimento diário menores quando comparados a inclusão de farinha de peixe, todavia, a disponibilidade de aminoácidos livres na dietas atuaram como intensificadores de sabor que melhoram diretamente a ingestão de ração (CHOTIKACHINDA et al., 2013). Ao incluir 2,88% de hidrolisado de tilápia em dietas de pargo (*P. major*), a taxa de eficiência proteica para os peixes foi de 1,80% (KHOSRAVI et al., 2015). Silva et al. (2017) apresentaram melhor desempenho produtivo de pós-larvas de tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*) para o nível de inclusão de 4,75%, aliados com respostas musculares envolvendo a hiperplasia das pós-larvas, no mesmo sentido, em formas juvenis da mesma espécie, a suplementação de hidrolisados resultaram em maior rendimento de filé (XAVIER et al., 2020). Para espécies de turbot (*S. maximus*) suplementados com hidrolisado de pescado, relataram resultados satisfatórios em relação ao peso final, taxa de crescimento específico e conversão alimentar na inclusão de 4,5%, no entanto,

Altura	171,92±14,25	125,74±8,39 ^{Ab}	158,07±11,92 ^{Ab}	177,16±13,10 ^{Aa}	118,70±6,86 ^{Bb}	124,11±5,36 ^{Aa}	134,94±4,90 ^{Bb}
Espessura	29,79±9,04	29,79±3,16 ^{Ab}	36,30±1,30 ^{Aa}	30,23±1,31 ^{Aa}	36,30±4,19 ^{Ab}	29,40±2,90 ^{Bb}	38,05±9,16 ^{Aa}
Largura	75,21±21,27	72,02±3,17 ^{Aa}	78,12±2,8 ^{Aa}	70,76±2,55 ^{Aa}	79,58±2,60 ^{Aa}	74,37±3,17 ^{Aa}	64,92±4,98 ^{Ba}
Túnica	17,64±3,52	15,62±2,04	14,32±2,36	19,42±2,60	17,16±3,53	16,33±2,07	17,29±2,05

Valores médios seguidos por letra maiúscula diferente, na mesma linha, indicam efeito significativo no fator nível de inclusão pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Valores médios seguidos por letra minúscula diferente, na mesma linha, indicam efeito significativo no fator grau de hidrólise pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Valores médios seguidos por * na mesma linha, indicam diferença significativa do grupo controle pelo teste de Dunnet ($P < 0,05$). Fonte: Autores.

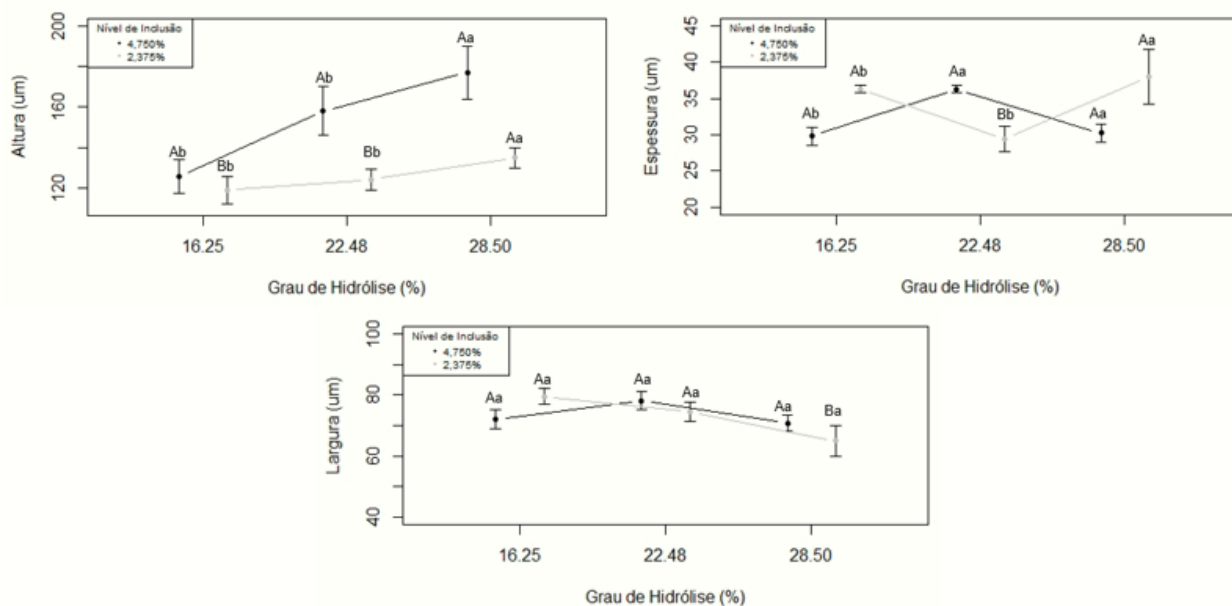


Figura 4. Efeitos interativos entre o nível de inclusão e o grau de hidrólise de HPP's na histomorfometria intestinal de pós-larvas de tilápia-do-Nilo. Fonte: Autores.

Uma análise que chamou a atenção em relação a histomorfometria intestinal dos peixes foi em relação a influência da inclusão de 2,375% do HPP em condições de grau de hidrólise de 28,56%, a qual acarretou em valores menores para a largura das vilosidades quando comparado aos demais tratamentos, além de apresentar maior espessura, parâmetro que apresentou significância para ambos os fatores avaliados. Apesar de não diferenciar-se do grupo controle a partir de análises estatísticas, a inclusão de HPP demonstrou que o peixe é capaz de adaptar-se na absorção dos aminoácidos e nutrientes sem comprometimento estrutural, visto que, apesar de valores menores para a altura observados nas vilosidades, o peixe refletiu positivamente em relação ao desempenho produtivo e ganho em peso quando adicionado HPP na dieta, indicando possível ação funcional do HPP.

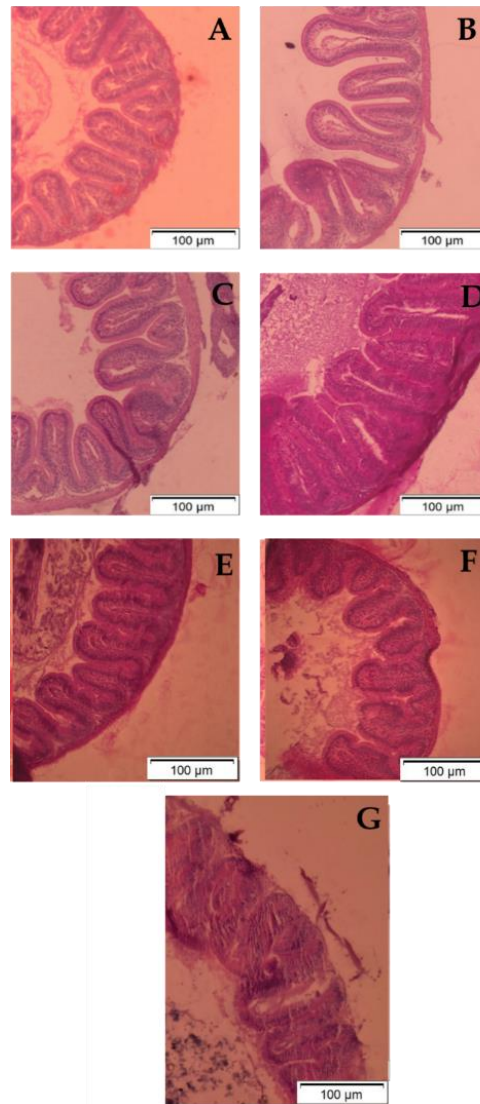


Figura 4. Parede do intestino medial de pós-larvas de tilápia-do-Nilo para os diferentes níveis de inclusão de hidrolisado proteico de tilápia com diferentes graus de hidrólise nas dietas. Lâminas coradas em H.E. Fotografias realizadas na lente objetiva com escala de 100 µm e ampliada em 40x . (A) Controle; (B) HPP1; (C) HPP2; (D) HPP3; (E) MH1; (F) MH2; (G) MH3. Fonte: Autores.

Tendo em vista o importante papel das vilosidades na absorção de nutrientes, onde a partir desta região os nutrientes são carregados para a corrente sanguínea por enzimas transportadoras (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2005), no entanto, Kolkovski & Tandler (2000) sugerem que um fluxo muito rápido de peptídeos curtos através da parede intestinal pode saturar o sistema digestivo larval.

Estudos anteriores indicaram que o comprimento das vilosidades intestinais pode facilitar processos de digestão e melhorar a integridade e capacidade de absorção de superfície, assim como a utilização de nutrientes (DIMITROGLOU et al., 2009, WANG et al., 2018). Em avaliações da morfohistologia intestinal de tilápia (*Oreochromis* sp.) suplementada com ingredientes proteicos, Wing-Keong et al.

(2019) não observaram efeito da inclusão destes. A análise da morfologia intestinal e os resultados obtidos no presente estudo foram satisfatórios, visto que, observou-se adaptações dos intestinos dos peixes para otimização da absorção dos nutrientes oferecidos pelos ingredientes, principalmente os peptídeos de baixo peso molecular disponibilizados pelos hidrolisados proteicos.

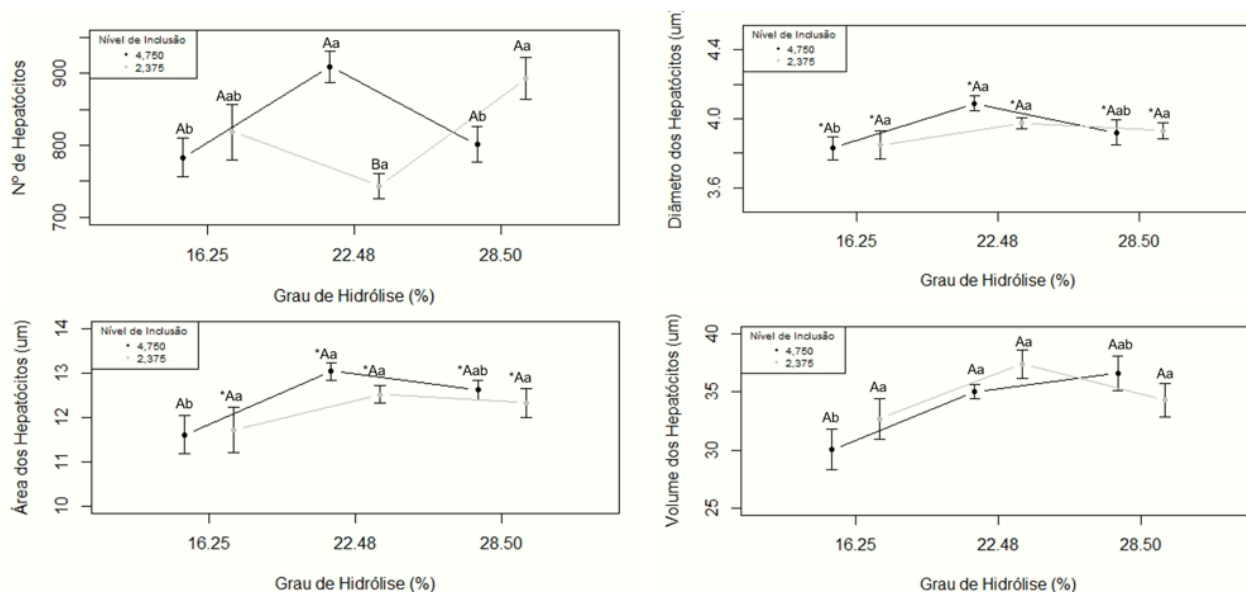
O fígado possui função fundamental para o metabolismo dos peixes, diferenças na quantidade, formato e tamanho dos hepatócitos assim como no núcleo estão associados a patologias hepáticas e a atividade metabólica das células do fígado (RAŠKOVIĆ et al. 2011). Ao avaliar a histomorfometria dos fígados (Tabela 4; Figura 5) das pós-larvas suplementados, observou-se um efeito interativo entre os fatores nível de inclusão e grau de hidrólise dos HPP's. Em relação ao nível de inclusão, observou-se efeito apenas para a inclusão de 2,375% do HPP com grau de hidrólise 22,43%, apresentando menor quantidade de hepatócitos para este tratamento. Os demais parâmetros do fígado foram influenciados a partir do grau de hidrólise dos hidrolisados, onde os diâmetros dos hepatócitos apresentaram-se maiores quando em maiores graus de hidrólise, inclusive diferenciando-se significativamente da dieta controle. Em relação ao número de hepatócitos, quando suplementada com nível de inclusão de 4,75%, o grau de hidrólise de 22,43% revelou maiores valores, já para a inclusão de 2,375%, sugere-se o grau de hidrólise de 28,56% para potencializar a quantidade e integridade destas células.

Tabela 4. Histomorfometria intestinal de pós-larvas de tilápia-do-Nilo alimentados com rações contendo hidrolisados proteicos de tilápia com diferentes graus de hidrólise.

Parâmetro	Tratamentos							p-valor
	Controle	H1	H2	H3	MH1	MH2	MH3	
Número	781,67±83,44	782,82±59,93 ^{Ab}	909,61±47,93 ^{Aa}	801,17±54,78 ^{Ab}	818,89±46,36 ^{Aab}	743,78±86,15 ^{Bb}	893,36±38,67 ^{Aa}	<0,001
Diâmetro dos núcleos	3,57±0,12	3,85±0,19 ^{*Ab}	4,057±0,10 ^{*Aa}	3,981±0,13 ^{*Aab}	3,83±0,14 ^{*Aa}	4,00±0,10 ^{*Aa}	3,87±0,12 ^{*Aa}	0,001
Área	10,13±0,72	11,28±1,22 ^{Ab}	12,92±0,36 ^{*Aa}	13,50±0,80 ^{*Aab}	12,06±0,88 ^{*Aa}	12,35±0,62 ^{*Aa}	12,02±0,42 ^{*Aa}	0,007
Volume	24,66±2,70	28,72±3,90 ^{Ab}	35,21±1,38 ^{Aa}	40,82±3,32 ^{Aab}	34,68±3,88 ^{Aa}	35,57±2,77 ^{Aa}	33,59±3,15 ^{Aa}	0,006

Valores médios seguidos por letra maiúscula diferente, na mesma linha, indicam efeito significativo no fator nível de inclusão pelo teste de Tukey (P<0,05). Valores médios seguidos por letra minúscula diferente, na mesma linha, indicam efeito significativo no fator grau de hidrólise pelo teste de Tukey (P<0,05). Valores médios seguidos por * na mesma linha, indicam diferença significativa do grupo controle pelo teste de Dunnet (P<0,05). Fonte: Autores.

Figura 5. Efeitos interativos entre o nível de inclusão e o grau de hidrólise de HPP's na histomorfometria intestinal de pós-larvas de tilápia-do-Nilo.



Valores médios seguidos por letra maiúscula diferente, na mesma linha, indicam efeito significativo no fator nível de inclusão pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Valores médios seguidos por letra minúscula diferente, na mesma linha, indicam efeito significativo no fator grau de hidrólise pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Valores médios seguidos por * na mesma linha, indicam diferença significativa do grupo controle pelo teste de Dunnet ($P < 0,05$). Fonte: Autores.

O diâmetro dos núcleos dos hepatócitos foi influenciado pelo grau de hidrólise do HPP, quando submetidos a inclusão de 4,75% de HPP observou-se maiores valores para este parâmetro com o aumento do grau de hidrólise, porém, em menor inclusão, tal feito não fora observado, apesar de maiores valores serem observados em relação ao controle. Os parâmetros referentes a área e diâmetro dos hepatócitos seguiram o comportamento citado anteriormente.

A partir de estudos da histomorfometria dos hepatócitos do fígado de peixes, é possível obter biomarcadores úteis para estudos experimentais sobre as respostas nutricionais e avaliação da saúde dos peixes (RODRIGUES et al., 2017). As características do fígado dos peixes sugerem efeito positivo da inclusão do HPP nas dietas e a partir destas informações torna-se essencial o estudo bioquímico deste órgão, tendo em vista que o fígado em relação ao metabolismo, saúde e absorção de nutrientes para os peixes (RAŠKOVIĆ et al., 2011)

A combinação ideal de nível de inclusão e grau de hidrólise nas dietas de peixes ainda não foram bem estabelecidas. Assim, os efeitos dos hidrolisados sobre o metabolismo dos peixes precisa ser mais explorado para garantir que modificações na dieta não irão induzir distúrbios metabólicos significativos que podem comprometer o desempenho zootécnico dos peixes a longo prazo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão de 2,375% do HPP com GH 28,56% proporcionou um incremento de 13,57% na performance produtiva de pós-larvas de tilápia do Nilo, além de auxiliar no aproveitamento dos nutrientes disponibilizados pela dieta.

As pós-larvas de tilápia-do-Nilo apresentaram adaptações no intestino e fígado decorrentes da carga de suplementação dos hidrolisados proteicos em diferentes graus de hidrólise.

REFERÊNCIAS

ALVES, D. R. S., OLIVEIRA, S. R., LUCZINSKI, T. G., BOSCOLO, W. R., BITTENCOURT, F., SIGNOR, A., & DETSCH, D. T. (2020) Attractability and palatability of liquid protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. **Aquaculture Research**. 00.1-8.

ALVES, G. K. Uso de Papaína e Bromelina para obtenção de Hidrolisados Proteicos de Fígado de Suíno. Florianópolis, 2015. 91p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina.

ARANA, L. V. (2004) **Fundamentos de aquicultura**. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, p.349.

BALDISSEROTTO, B. (2009) **Fisiologia de peixes aplicada a piscicultura**. 2 ed. Santa Maria, UFSM.

BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. (2014) **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal: FUNEP. NLM.

BRUSLÉ, J. & ANADON, G. G. (1996) The structure and function of fish liver, p.77-93. In: MUNSHI J.S.D. & DUTTA H.M. (Eds.), **Fish Morphology**. Oxford and IBH Publishing Co., PVT Ltd, New Delhi.

CARVALHO, J. V., LIRA, A. D., COSTA, D. S. P., MOREIRA, E. L. T., PINTO, L. F. B. & ALBINATI, R. C. B. (2011) Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou nanoligossacarídeo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.12, 176-187.

CHOTIKACHINDA, R.; TANTIKITTI, C.; BENJAKUL, S.; RUSTAD, T.; KUMARNSIT, E. (2013) Production of protein hydrolysates from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera as feeding attractants for Asian seabass (*Lates calcarifer*). **Aquaculture Nutrition**, v.19, 773-784.

DECARLI, J. A., PEDRON, F. A., LAVARRI, R., SIGNOR, A., BOSCOLO, W. R., FEIDEN, A. (2016) Hidrolisado proteico na alimentação do jundiá. **Revista brasileira de Ciências Veterinária**, v. 23,168 – 173.

- FRENHANI, P. B & BURINI, R. C. (1999) Mecanismos de absorção de aminoácidos e oligopeptídeos: Controle e implicações na dietoterapia humana. **Arquivos de Gastroenterologia** [online]. v.36, n.4, 227-237.
- FUJIMOTO, R. Y., CRUZ, C. & MORAES F. R. (2008) Análise de efluente e histologia da pele, fígado e rim de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) suplementados com cromo trivalente. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 34(1): 117-124
- HONORATO, C. A.; CRUZ, C.; CARNEIRO, D. J.; MACHADO, M. R. F. (2011) Histologia e histoquímica do intestino anterior de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo silagem de peixe. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 4, 281- 288
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. (2008) **Histologia básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 524p.
- KOLKOVSKI, S., TANDLER, A. (2000) The use of squid protein hydrolysate as a protein source in microdiets for gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. **Aquaculture Nutrition**, v.6, 11–17.
- KOTZAMANIS, Y. P., GISBERT, E., GATESOUBE, F. J., ZAMBONINO INFANTE, J., CAHU, C. (2007) Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.** 147.
- LEWANDOWSKI, V., BITTARELLO, A. C., PESSINI, J. E., SIGNOR, A., FEIDEN, A., BOSCOLO, W. R. (2013) Hidrolisado proteico de tilápia na larvicultura de bagre africano, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). **Cultivando o Saber**, v.6, n.2, p.172-177.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., RANDALL, R. J. 1951 Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal Biology Chemical**. v.193(1), 265-75.
- NRC - National Research Council. (2011) **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. The National Academies Press, Washington, D.C.392p.
- RAŠKOVIĆ B. S., STANKOVIĆ, M. B., MARKOVIĆ, Z. Z. & POLEKSIĆ, V. D. (2011) Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. **Journal of Agriculture Science**, 56(1):87-100.
- RONNESTAD, I.; MORAIS, S. DIGESTION. (2008) In: R. N. Finn, B. G. Kapoor. Fish larval physiology. **Science Publishers: USA**. p. 741.
- SILVA, J. F. X., RIBEIRO, K., SILVA, J.F., CAHU, T., BEZERRA, R. (2014) Utilization of tilapia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. **Animal Feed Science and Technology**, v.196.

SILVA, T. C.; ROCHA, J. D. M.; MOREIRA, P.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W. R. 2017 Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.52, 485-492.

SRICHANUN, M., TANTIKITTI, C., KORTNER, T. M., KROGDAHL, Å., CHOTIKACHINDA, R. (2014). Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. **Aquaculture** 428–429, 195–202.

OKAMURA, D. (2010) Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia** [online]. v.39, n.5, 971-976.

WEI, W., LI, B., XU, H., LIANG, M. (2020) Fish protein hydrolysate in diets of turbot affects muscle fibre morphometry, and the expression of muscle growth-related genes. **Aquaculture Nutrition**. 00:1–12.

XAVIER, D. T. O., FAVA, A. F., CASTRO, V. S., BECK, H. S., SIGNOR, A., BOSCOLO, W. R. (2020) Hydrolyzed chicken and mucosa protein in diets for Nile tilapia youth (*Oreochromis niloticus*). **Agrarian Academic Journal**, v.3, n.2.

ZARAVEZE, E. R.; SILVA, C. M.; SALAS-MELLADO, M. (2009) Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrina (*Prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas. **Química Nova**, v. 32, n. 7, 1739 – 1743.

AVALIAÇÃO DE NOVA ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL DE INGREDIENTES PROTEICOS PARA DIETAS DE PEIXES

Karollina Lopes de Siqueira Soares¹; Ramires Eloise Queiroz Rafael²; Maria Angélica da Silva³; Isabela Janne de Lima⁴; Janilson Felix da Silva⁵; Thiago Barbosa Cahú⁶; Juliana Ferreira dos Santos⁷; Ranilson de Souza Bezerra⁸.

RESUMO

Um dos grandes desafios para os pesquisadores da aquicultura é encontrar ou desenvolver ingredientes proteicos que possuam qualidades satisfatórias, de fácil acesso, baixo custo e que ainda contribuam com a diminuição dos resíduos gerados pelo processamento de produtos aquícolas. Diante disso, o trabalho visa formular e testar *in vitro* a eficiência de novos ingredientes a partir do hidrolisado proteico de camarão, proveniente dos resíduos do beneficiamento da indústria camaroneira, e que apresentem qualidade nutricional compatível para utilização em rações de organismos aquáticos. Até o momento foi obtido dois ingredientes com composição centesimal semelhante à farinha de peixe, com baixa inibição enzimática nos ensaios com extrato bruto de enzimas do intestino de peixes alvo da aquicultura brasileira e baixas quantidades de microrganismos específicos e unidades formadoras de colônias de mesófilos, até os 125 dias. Tais características demonstram que os ingredientes desenvolvidos podem ser bons substitutos da farinha de peixe nas rações para peixes.

Palavras-chave: Proteases. Hidrolisado. *Litopenaeus vannamei*. Nutrição.

ABSTRACT

One of the major challenges for aquaculture researchers is to find or develop protein ingredients that have satisfactory qualities, are easily accessible, low cost and that still contribute to reducing the waste generated by processing aquaculture products. Therefore, the work aims to formulate and test *in vitro* the efficiency of new ingredients from the shrimp protein hydrolyzate, from the residues from the processing of the shrimp industry, and which present compatible nutritional quality for use in aquatic organisms' diets. To date, two ingredients have been obtained with a centesimal composition similar to fishmeal, with low enzyme inhibition in the tests with crude enzyme extract from the intestines of target fish in Brazilian aquaculture and low

¹ Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9812753522017598> karollina.lopes@gmail.com

² Doutoranda em Aquicultura pela Universidade Federal de Santa Catarina. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9814840610085923> eloise.ramires@gmail.com

³ Engenheira de Pesca pela Universidade Federal Rural de Pernambuco. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8852280908379007> angelica12silva@gmail.com

⁴ Mestre em Biologia de Fungos pela Universidade Federal de Pernambuco. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2304114112670734> ijlbio@hotmail.com

⁵ Pós doutorando em Zootecnia pela Universidade Federal da Bahia. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7539978708722028> janilson.felix@gmail.com

⁶ Pós doutorando em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2895044159302657> thiagocahu@yahoo.com.br

⁷ Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco. Professora do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6621907859216486> juli.ferreira.santos@gmail.com

⁸ Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco. Professor dos Departamentos de Ciências Biológicas e de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2205151409139871> ransoube@uol.com.br

amounts of specific microorganisms and colony-forming units of mesophiles, up to the 125 days. Such characteristics demonstrate that the developed ingredients can be good substitutes for fish meal in fish feed.

Key words: Proteases. Hydrolyzed. *Litopenaeus vannamei*. Nutrition.

INTRODUÇÃO

O pescado e seus derivados têm papel crucial na nutrição e segurança alimentar mundial. Em países de baixa renda, o seu consumo é reforçado por conterem nutrientes e micronutrientes valiosos (vitaminas, minerais, aminoácidos e ácidos graxos essenciais) e necessários para resolver deficiências nutricionais mais graves e generalizadas. Além disto, evidências confirmam os efeitos benéficos do consumo de peixes para saúde mental e prevenção de doenças cardiovasculares, acidente vascular cerebral e degeneração macular relacionada à idade (FAO, 2018).

A produção de pescados em 2018 atingiu cerca de 179 milhões de toneladas no mundo e a aquicultura foi responsável por 48% do total, estima-se que 12,3%(22 milhões de toneladas) da produção total foi destinada a usos não alimentares, principalmente farinha e óleo de peixe (FAO, 2020).

A farinha de peixe é a fonte proteica preferida para rações de organismos aquáticos, devido à profusão de aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas e sais minerais, além de conferir palatabilidade e alta digestibilidade e absorção (FRACALOSSI e CYRINO, 2013; HAN et al., 2018). Porém, o aumento da aquicultura mundial e a utilização da farinha de peixe na produção de rações para outros seguimentos, como animais domésticos e aves, fizeram com que a demanda por esta farinha aumentasse e a soma deste fato com a diminuição da produção mundial da farinha, por diversos fatores, tornou a farinha de peixe muito onerosa e insustentável (HAN et al., 2018; FAO, 2020).

Diversos estudos se voltaram em busca de alternativas mais viáveis para aquicultura, principalmente por fontes proteicas de origem vegetal, no entanto, nos últimos dez anos os esforços se voltaram a estudar e melhorar o farelo de soja, que por sua vez começou a apresentar restrições econômicas e ambientais (DIÓGENES et al., 2019).

Perante o exposto, um dos maiores desafios para os pesquisadores da aquicultura é encontrar ingredientes proteicos que sejam sustentáveis e que supram

as necessidades nutricionais das espécies, garantindo resultados satisfatórios de crescimento e conversão alimentar.

O *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) predomina a carcinicultura brasileira, que alcançou aproximadamente 45,8 mil toneladas em 2018 (IBGE, 2019). Segundo Heu et al. (2003), os subprodutos do camarão correspondem aproximadamente à 50% de seu peso total, que são compostos por cabeça, exoesqueleto e cauda. Considerando a produção da carcinicultura, aproximadamente 23 mil toneladas de resíduos de camarão podem ter sido descartados no país em 2018, tornando importante o seu aproveitamento nas vertentes da sustentabilidade.

O simples uso da farinha de cabeça de camarão na formulação de alimentos para organismos aquáticos não é recomendado, devido à alta concentração de fibras e cinzas, o que resulta na formação de pellets com baixa estabilidade em água e menor digestibilidade (CAVALHEIRO et al., 2007; FRACALLOSSI e CYRINO, 2013). Entretanto, o resíduo das cabeças de camarões pode ser aproveitado melhor na forma de proteína hidrolisada, como alternativa aos ingredientes proteicos tradicionais (OETTERER, 2002).

A hidrólise enzimática é uma técnica que objetiva a retomada das proteínas de subprodutos, ou resíduos que seriam desperdiçados, preservando a qualidade nutricional do substrato original (OGAWA e MAIA, 1999). As enzimas são catalisadores das reações dos sistemas biológicos, ou seja, aceleram as reações químicas; elas dispõem de especificidade de alto grau para os seus devidos substratos, e atuam em solução aquosa sob condições brandas de temperatura e pH (NELSON e COX, 2018). Pesquisadores descobriram que enzimas de pescados tendem a possuir boa atividade enzimática, com poucos esforços (BEZERRA et al., 2001, 2005; ALENCAR et al., 2003; CANDIOTTO et al., 2018).

Cahú et al. (2012) desenvolveram um processo de aproveitamento de cabeças de camarão para obtenção de diversos produtos, dentre eles, o hidrolisado proteico de camarão que Da Silva et al. (2017) reproduziu e avaliou, onde os resultados de composição indicam que o hidrolisado pode ser fonte de proteína para dietas na aquicultura.

Diante disto, este trabalho objetiva formular, caracterizar e avaliar *in vitro* dois novos ingredientes proteicos à base de hidrolisado de cabeças de camarão e farelo de soja, para alimentação de diversos peixes de interesse para aquicultura brasileira e diferentes hábitos alimentares.

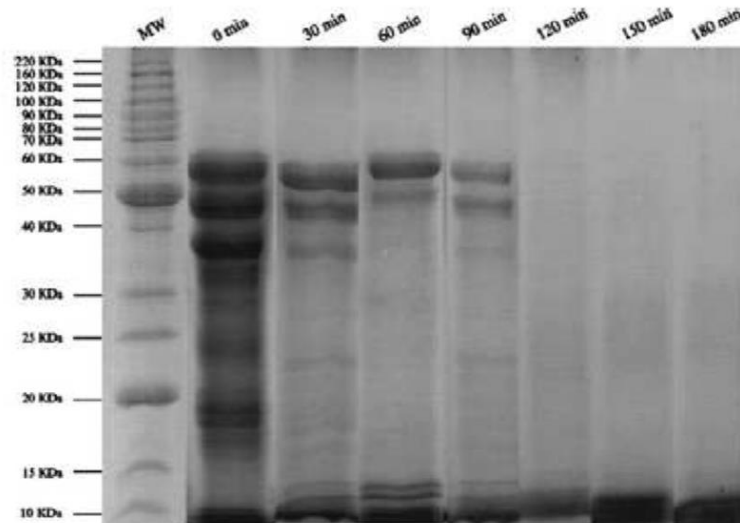
MATERIAIS E MÉTODOS

Produção de hidrolisados proteicos de camarão (HPC), obtenção e caracterização do ingrediente

Cabeças do camarão *Litopenaeus vannamei* foram obtidas através de empresas beneficiadoras de pescado do estado de Pernambuco e transportadas para o Laboratório de Enzimologia (LABENZ), da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), dentro de isopor com gelo. Neste local, os resíduos foram lavados com água destilada e em seguida separados em embalagens contendo 1kg e posteriormente congelados em freezer a -22°C. Em seguida foram transportados em caixas de isopor até à Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) e armazenados em freezer a -20°C até serem utilizados para produção do hidrolisado.

O hidrolisado proteico de camarão (HPC) foi preparado segundo Cahú et al., (2012), onde as cabeças de camarão foram misturadas com água destilada na proporção de 1:1 (peso/volume) e trituradas em liquidificador. Logo após, a mistura foi levada ao banho maria a 45°C e agitação constante. Os tempos definidos para hidrólise foram selecionados de acordo com a eletroforese (Imagem 1) publicada por Santos et al., (2013), onde foram escolhidos dois tempos distintos de hidrólise com o intuito de obter produtos com características distintas, um menos hidrolisado (30 min) e outro mais hidrolisado (120 min), gerando HPC30 e HPC120 (Imagem 2). Para desativação das enzimas, a mistura foi submetida a aquecimento a 100°C por 10min e depois foi separada a parte sólida (quitina) da líquida (HPC) com peneira.

Imagem 1: Eletroforese de hidrolisados proteicos de camarão em diferentes tempos



Fonte: Santos et al. (2013)

Os ingredientes foram obtidos através da mistura do HPC30 e HPC120 (separadamente), com o farelo de soja e geraram os ingredientes BP30 e BP120. O método de obtenção e as proporções dos ingredientes encontram-se em processo de patente.

Imagem 2: Hidrolisado proteico de cabeças de camarão (HPC)



Fonte: Os autores

Composição centesimal dos ingredientes

A composição centesimal foi realizada no CBO Análises Laboratoriais, Campinas-SP, segundo as metodologias sugeridas pela NRC (1993). Foram analisados: Farelo de soja (FS), farinha de peixe (FP) e os dois novos ingredientes (BP30 e BP120). A proteína bruta foi analisada pelo método Dumas, o extrato etéreo por Soxhlet, as fibras pelo método enzimático gravimétrico, a umidade por perda de água em estufa a 100°C e as cinzas por incineração em forno mufla a 550°C.

Análise microbiológica dos novos ingredientes

As análises foram realizadas em colaboração com o Laboratório de Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os testes foram aplicados apenas aos novos ingredientes (BP30 e 120).

No Brasil as regulamentações para alimentação animal são descritas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), porém não há legislação específica para microrganismos e na ausência de legislação do ministério, recomenda-se as legislações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) ou do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) (BRASIL, 2020). Para tal caso, foram analisados os microrganismos recomendados pela ANVISA.

Contagem de microrganismos mesófilos

Nas análises microbiológicas de mesófilos dos ingredientes, foram utilizados 10 mL do meio de cultivo “Agar Plate Count” (Standard Methods Agar Acumedia) em placas de Petri. Os ingredientes foram diluídos na proporção de 1:1 (p/v) em água peptonada, sendo este material inoculado nas placas nas proporções de 250 uL e 500 uL, separadamente. Para obtenção das colônias uniformes, as amostras foram imediatamente homogeneizadas por rotação nas placas, depois de serem pipetadas. Após a solidificação total, as placas foram invertidas e incubadas por 2 dias a 37°C. As análises foram realizadas a cada 15 dias.

Microrganismos específicos

Foram analisados em cada novo ingrediente os seguintes micro-organismos: bolores e leveduras de coliformes a 45°C, estafilococos coagulase positiva e *Salmonella*. Estas análises foram feitas no tempo inicial de preparo do produto (denominado tempo zero) e em seguida com 140 dias de preparo.

Efeitos inibitórios dos ingredientes sobre as enzimas digestivas de peixes de valor comercial

Para avaliação do efeito inibitório dos ingredientes, foram utilizados extratos brutos do intestino de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), curimatã (*Prochilodus costatus*), pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), oscar (*Astronotus ocellatus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e tucunaré (*Cichla ocellaris*), que pertenciam aos estoques do LABENZ. Os ingredientes avaliados foram: Farelo de soja, farinha de peixe, hidrolisado proteico de cabeças de camarão por 120min (HPC 120) e

ingrediente BP120. Adaptou-se a metodologia proposta por Lemos et al. (2004), onde os ingredientes foram diluídos durante 16 horas em tampão tris-HCl 0,1M pH 8,0 na proporção de 1:12 (p/v) no agitador magnético, em seguida o conteúdo foi centrifugado e separado o sobrenadante.

Para os ensaios foram incubados 20 μ L da solução dos ingredientes (separadamente) com 10 μ L de extrato bruto do intestino dos peixes anteriormente descritos (BEZERRA et al. 2005) (por 90 minutos). À esta mistura foi adicionado 50 μ L de azocaseína 1% pH 8,0 e o branco da reação foi constituído de tampão tris-HCl 0,1M pH 8,0 (30 μ L) + azocaseína 1% (diluída no mesmo tampão) (50 μ L). A atividade enzimática foi executada de acordo com o protocolo de atividade utilizando azocaseína 1% como substrato (BEZERRA et al., 2005). A inibição foi calculada em termos de percentual de atividade residual.

O teste foi realizado em triplicata e para analisar os dados foram utilizados cálculos de estatística descritiva com base em porcentagens através do programa Excel, 2007 e inferência estatística com teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov), homogeneidade das variâncias (Bartlett), análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, com nível de significância $P < 0,05$ (ZAR, 2013), utilizando o programa Assistat 7.7 beta e Origin 8.0.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Produção de hidrolisados proteicos de camarão (HPC), obtenção e caracterização dos ingredientes

Várias tentativas foram executadas para obter ingredientes com boas características de uso, especialmente no que tange a concentração de HPC, farelo de soja e tempo de secagem e temperatura que não desnaturassem as proteínas. A forma de obtenção não será descrita pois encontra-se em processo de patente. Os novos ingredientes (Imagem 3) (BP30 e 120) apresentaram composição centesimal atrativas para a formulação de dietas para organismos aquáticos (Tabela 1), pois possuem teores de proteína bruta e extrato etéreo semelhantes aos da farinha de peixe (FP) e maiores do que o do farelo de soja (FS).

Imagem 3: Novo ingrediente BP120 composto por hidrolisado de cabeças de camarão e farelo soja



Fonte: Os autores

Tabela 4: Composição centesimal dos ingredientes

Constituintes	BP 30 (%)	BP 120 (%)	FS (%)	FP (%)
Umidade	7,13	9,99	10,28	4,4
Proteína bruta	61,40	64,73	48,04	63,01
Fibras	2,31	2,40	4,73	1,31
Extrato etéreo	6,29	10,45	2,44	10,14
Cinzas	10,38	9,69	6,02	28,36

Fonte: Os autores

Abarra et al. (2017) produziram farinha de peixe faca inteiro com $62,36\% \pm 0,95$ de proteína bruta e obtiveram bons resultados ao utilizá-la na dieta de juvenis de tilápias do Nilo. Choi et al. (2020), obtiveram dois produtos: 1) fermentado de farelo de soja contendo 50,52% de PB e 2) farelo de soja fermentado com adição de peptídeos e ácidos com 50,26% de PB; onde observaram que até 40% de substituição da farinha de peixe pelos produtos, não altera o desempenho de crescimento de trutas.

Da Silva et al. (2017) enfatizou que o hidrolisado proteico de cabeças de camarão branco do pacífico é considerado excelente fonte de proteínas, devido ao seu perfil balanceado de aminoácido essenciais, o que leva a crer que os novos ingredientes também serão, por ser composto por HPC em mais da metade de sua fórmula.

Os teores de extrato etéreo dos novos ingredientes se assemelham aos da farinha de peixe, reafirmando suas potencialidades como alternativa em dietas de peixes. O nível ótimo de lipídeos na dieta varia, dependendo da quantidade de proteínas e carboidratos por causa das interações entre os metabolismos dos constituintes (FRACALOSSI; CYRINO, 2013).

As cinzas corroboram com os resultados encontrados por Rocha (1998) e Souza (2002), onde os mesmos encontraram 12,50% na farinha de resíduos do *Litopenaus vannamei* e 12,10% na silagem com cabeça de camarão,

respectivamente, já Cano et al. (2017) encontraram o valor de 22,23% de cinzas na farinha de hidrolisado de cabeças de camarão.

Análise microbiológica dos novos ingredientes

Contagem de microrganismos mesófilos

Os resultados dos microrganismos mesófilos demonstraram que os ingredientes possuem tempo de prateleira de 125 dias (Tabela 2).

Tabela 2: Contagem total de mesófilos dos ingredientes armazenados sob temperatura ambiente.

Ingredientes	Tempo de estocagem em dias										
	Mesófilos (UFC/g)										
	0	15	30	45	60	75	90	95	110	125	140
BP30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.0x10 ²	Incontável
BP120	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.3x10 ²	Incontável

Fonte: Os autores

UFC: Unidade formadora de colônia

ND: Não detectado

A ANVISA é a regulamentadora de alimentos, medicamentos, sanidade, entre outros, do Ministério da Saúde do Brasil, e determina contagem máxima de 5×10^5 UFC por grama de farinha para produtos deste seguimento (BRASIL, 2001). Este valor é maior do que o encontrado nos novos ingredientes no tempo de 125 dias. Segundo Bueno-Solano et al., (2009), o valor de 1.730 UFC de mesófilos no hidrolisado proteico de camarão, não representa risco à saúde, este valor também é mais elevado do que o valor encontrado em 125 dias nos ingredientes armazenados sob temperatura ambiente.

Os microrganismos que representam risco a segurança alimentar, multiplicam-se no intervalo de 30 a 45°C de temperatura (GERMANO, GERMANO & UNGAR, 2003). Aos 140 dias, as UFC se tornaram incontáveis.

Microrganismos específicos

A ANVISA (BRASIL, 2001) determina a quantidade máxima permitida de microrganismos específicos para cada segmento de alimento. Foram realizadas análises de microrganismos específicos (Tabelas 3 e 4) determinados pela ANVISA para pescados e derivados da pesca, os resultados demonstraram que os microrganismos não possuíram crescimento no intervalo de 140 dias e que a quantidade de microrganismos já existentes nas amostras não atingiam os limites máximos determinados pela ANVISA, como são mostrados nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3: Análise de microrganismos específicos no primeiro dia de produção dos ingredientes (tempo zero).

Ingredientes	Coliformes a 45 °C NMP/g	<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva UFC / g	<i>Salmonella sp</i>	Leveduras e bolores UFC / g
BP30	< 3.0	< 10	Ausente	< 10
BP120	< 3.0	< 10	Ausente	< 10
Máx. permitido pela ANVISA	102	103	Ausente	103

Fonte: Os autores

NMP = Número Mais Provável

UFC = Unidades formadoras de colônias

Tabela 4: Análise de microrganismos específicos dos ingredientes com 140 dias de prazo.

Ingredientes	Coliformes a 45 °C NMP/g	<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva UFC / g	<i>Salmonella sp</i>	Leveduras e bolores UFC / g
BP30	< 3.0	< 10	Ausente	< 10
BP120	< 3.0	< 10	Ausente	< 10
Máx. permitido pela ANVISA	102	103	Ausente	103

Fonte: Os autores

NMP = Número Mais Provável

UFC = Unidades formadoras de colônias

A ANVISA determina a análise específica dos seguintes microrganismos: Clostrídios sulfito redutores a 44° C (com máximo de 2x10 UFC/g), *Bacillus cereus* (com no máximo 103 UFC/g) e *Staphylococcus aureus* (ausência em 0,1g), na resolução para as farinhas, além das demais já contempladas, com os limites máximos permitidos pela resolução de pescados e derivados da pesca. Porém, por falta de recursos, tais análises não foram realizadas.

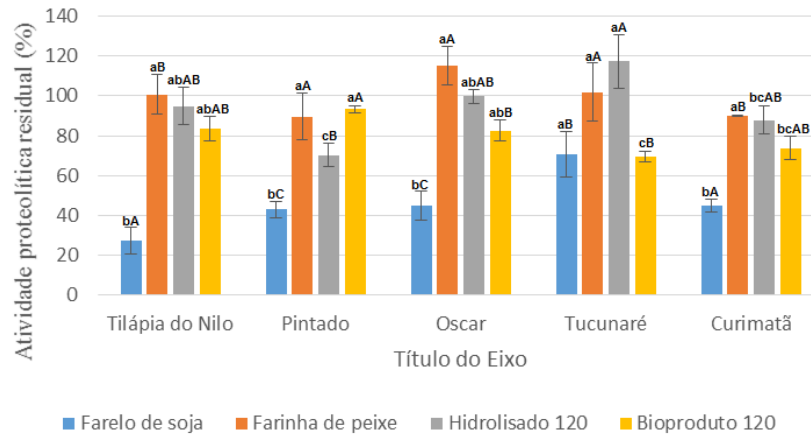
Os ingredientes BP30 e BP120 são constituídos por resíduos de origem animal (hidrolisado proteico de camarão) e vegetal (farelo de soja), caracterizando-os como coprodutos mistos, de acordo com a instrução normativa de nº 81, de 19 de Dezembro de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2018).

Efeitos inibitórios dos ingredientes sobre as enzimas digestivas de peixes

O efeito inibitório do HPC de 120 min, farinha de peixe e farelo de soja sobre o extrato bruto dos intestinos da tilápia do Nilo, curimatã, pintado, óscar, tambaqui e

tucunaré, foi adquirido em porcentagem de atividade proteolítica residual, como mostra o gráfico 1.

Gráfico 1: Efeito inibitório dos ingredientes sob enzimas digestivas de diferentes peixes



Fontes: Os autores

Letras minúsculas diferem significativamente na avaliação da atividade proteolítica residual dos extratos brutos dos intestinos, incubados com cada ingrediente, entre as diversas espécies de peixes. Letras maiúsculas diferem significativamente na avaliação da atividade proteolítica residual dos extratos brutos dos intestinos, entre os ingredientes para cada espécie de peixe. Para ambos foram utilizados teste de normalidade (Shapiro-Wilk), homogeneidade de variâncias (Bartlett), análise de variância (ANOVA), seguido de teste de Tukey. Para dados não normais foi aplicado teste de Kruskal Wallis, ambos com $P < 0,05$.

O farelo de soja apresentou maior índice de inibição para todas as espécies. Isso ocorre devido à presença de peptídeos que se ligam às enzimas e inibem suas atividades (PIKE & HARDY, 1997). A tilápia do Nilo foi a espécie em que houve o menor valor de atividade proteolítica residual. O tucunaré foi a espécie em que mais se destacou a atividade proteolítica residual, apesar de possuir hábito alimentar carnívoro. A tilápia do Nilo, por ser uma espécie onívora, teve sua atividade proteolítica mais inibida que a espécie carnívora tucunaré. Os resultados demonstram a viabilidade do uso dos novos ingredientes para rações em aquicultura, uma vez que pode auxiliar na redução dos custos para o cultivo desta espécie.

A farinha de peixe apresentou bons resultados para todas as espécies, como já era esperado, devido a quantidade de peptídeos e aminoácidos essenciais e de boa absorção.

O hidrolisado proteico de camarão apresentou resultados semelhantes de atividade proteolítica residual, comprovando a qualidade dos nutrientes. Com o

tucunaré o HPC apresentou atividade residual maior que a da farinha de peixe , contudo no pintado, foi observada maior inibição (cerca de 30%).

O ingrediente que consiste na mistura do hidrolisado proteico com o farelo de soja, barateando o custo do produto e diminuindo os resíduos gerados pela indústria do beneficiamento, atingiu resultados satisfatório na atividade residual, principalmente com o pintado, que atingiu média maior que a da farinha de peixe e o menor resultado de atividade residual. Com o tucunaré, esta atividade chegou a $69,6 \pm 2,6\%$, sendo ainda um bom resultado.

Sánchez-Muros et al. (2016) ao avaliarem atividade proteolítica de intestinos de tilápias do Nilo, com diferentes ingredientes, notaram que o tratamento que continha farinha de peixe e farelo de soja, obteve a menor atividade enzimática quando comparado com o tratamento em que substituía o farelo de soja por farinha de larvas de moscas, indicando que a ação dos inibidores do farelo de soja, por outro lado, ao incluírem a farinha de larvas de moscas ao primeiro tratamento, obtiveram maior atividade do que o segundo tratamento (farinha de peixe com farinha de larvas de moscas).

CONCLUSÃO

Segundo análises realizadas neste trabalho, os novos ingredientes demonstraram ser uma alternativa proteica viável para alimentação de organismos aquáticos, por possuir composição centesimal semelhante à da farinha de peixe; reduzido crescimento de microrganismos sob temperatura ambiente e frente às avaliações possíveis de serem feitas e baixas inibições enzimáticas sobre os extratos brutos de intestinos de peixes de interesse para a aquicultura brasileira. Mais trabalhos devem ser realizados, a fim de avaliar o desempenho zootécnico e digestibilidade aparente.

REFERÊNCIAS

ABARRA, S. T.; VELASQUEZ S. F.; GUZMAN K. D. D. C.; FELIPE J. L. F.; TAYAMEN M. M.; RAGAZA J. A. Replacement of fishmeal with processed meal from knife fish *Chitala ornata* in diets of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Reports**, v. 5, p. 76–83, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.01.001>.

ALENCAR, R. B.; BOINDI, M. M.; PAIVA, P. M. G.; VIEIRA, V. L. A.; CARVALHO JR, L. B.; BEZERRA, R. S. Proteases Alcalinas do Trato Digestório de Quatro Espécies

Tropicais Marinhas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 279–284, 2003.

BEZERRA, R. S., SANTOS, J. F., PAIVA, P. M., CORREIA, M. T., COELHO, L. C., VIEIRA, V. L., & CARVALHO JR, L. B. Partial purification and characterization of a thermostable trypsin from pyloric caeca of tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Journal of Food Biochemistry**, v. 25, n. 3, p. 199-210, 2001. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2001.tb00734.x>

BEZERRA, R.S.; LINS, E.J.F.; ALENCAR, R.B.; PAIVA, P.M.G.; CHAVES, M.E.C.; COELHO, L.C.B.B.; CARVALHO Jr., L.B. Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Process Biochemistry**. v. 40, p. 1829-1834, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.066>

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução nº. 12, de 02 de Janeiro de 2001. **Aprova padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rde.htm. Acessado em: 07 jul. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **RTIQ – Pescado e seus derivados**. Pescado Regulamentos RTIQ. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-pescado-e-seus-derivados>. Acessado em: 03 nov. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Instrução Normativa Nº 81 de 19 de Dezembro de 2018**. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-81-de-19-de-dezembro-de-2018.pdf/view>. Acessado em: 03 nov. 2020.

BUENO-SOLANO, C.; LOPEZ-CERVANTES, J.; CAMPAS-BAYPOLI, O.N.; LAUTERIO-GARCIA, R.; ADAN-BANTE, N.P.; SANCHEZ-MACHADO, D.I. Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. **Food Chemistry**, v. 112, p. 671–675, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.029>

CAHÚ, T.B.; SANTOS, S.D.; MENDES, A.; CÓRDULA, C.R.; CHAVANTE, S.F.; CARVALHO JR., L.B.; NADER, H.B.; BEZERRA, R.S. Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 570–577. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.12.012>

CANDIOTTO, F. B., FREITAS-JÚNIOR, A. C. V., NERI, R. C. A., BEZERRA, R. S., RODRIGUES, R. V., SAMPAIO, L. A., e TESSER, M. B. Caracterização de enzimas digestivas do linguado brasileiro de cativeiro *Paralichthys orbignyanus*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 2, p. 281-288, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.06616>.

CANO, Yuli; ZARATE, Yeneima; GARCÍA-ZAPATEIRO, Luis A. Food emulsion type oil in water prepared with high-protein from shrimp (*Penaeus vannamei*) heads flour-SHF. **Ingeniería e Investigación**, v. 37, n. 3, p. 17-22, 2017. <http://dx.doi.org/10.15446/ing.investig.v37n3.59826>

CAVALHEIRO, J. M. O.; SOUZA, E. O.; BORA, P. S. Utilization of shrimp industry waste in the formulation of tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) feed. **Bioresource Technology**, v. 98 (3), p. 602-606. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.02.018>

CHOI, D. G., HE, M., FANG, H., WANG, X. L., LI, X. Q., & LENG, X. J. Replacement of fish meal with two fermented soybean meals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v. 26, n. 1, p. 37–46, 2019. <https://doi.org/10.1111/anu.12965>

DA SILVA, C. P., BEZERRA, R. S., DOS SANTOS, A. C. O., MESSIAS, J. B., DE CASTRO, C. R. O. B., & JUNIOR, L. B. C. Biological value of shrimp protein hydrolysate by-product produced by autolysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 456–461, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.008>

DIÓGENES, A. F., BASTO, A., ESTEVÃO-RODRIGUES, T. T., MOUTINHO, S., AIRES, T., OLIVA-TELES, A., & PERES, H. Soybean meal replacement by corn distillers dried grains with solubles (DDGS) and exogenous non-starch polysaccharidases supplementation in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v. 500, p. 435–442, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.035>

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture - **Meeting the Sustainable Development Goals**, Food and Agriculture Organization, Rome, Italy. v.200, 2018. ISBN: 978-92-5-130571-3.

FAO: The State of Food Security and Nutrition in the World 2020. **Sustainability in action**. v. 201, 2020. ISBN: 978-92-5-132901-6.

FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. **Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, v. 375, 2013. ISBN: 978-85-60190-03-4.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S.; UNGAR, M.L. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. 2.ed. ver. ampl. São Paulo: Varela, 2003. 655p.

HAN, D., SHAN, X., ZHANG, W., CHEN, Y., WANG, Q., LI, Z., ... & MAI, K. A revisit to fishmeal usage and associated consequences in Chinese aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 2, p. 493-507, 2018. <https://doi.org/10.1111/raq.12183>

HEU, M.S.; KIM, J.S.; SHAHIDI, F. Components and nutritional quality of Shrimp processing by-products. **Food Chemistry**, v. 82, p. 235-242, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00519-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00519-8)

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, I. Produção da Pecuária Municipal 2019, IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, p. 1–8, 2019. Disponível em:

<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=publicacoes>. Acesso em: 10 set. 2020.

LEMOS, D.; NAVARRETE DEL TORO, B. A.; CORDOVA-MURUETAB, J.H.; GARCIA-CARREÑO, F. Testing feeds and feed ingredients for juvenile pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: *in vitro* determination of protein digestibility and proteinase inhibition. **Aquaculture**, v. 239, p. 307–321, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.032>

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirement of fish**. 2.ed., Washington, D.C.: National Academy Press, p.114, 1993. ISBN: 0-309-04749-8.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger-7**. Artmed Editora, 2018. ISBN: 9788582715338.

OETTERER, M. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba: Agropecuária, 2002. ISBN: 9999001080924.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca**. Livraria Varela, 1999. ISBN: 9788585519445.

PIKE, I. H.; HARDY, R. W. Standars for assessing quality of feed ingredients. In:Advances in world aquaculture. **World Aquaculture Society**. v. 6, p. 473-492, 1997.

SÁNCHEZ-MUROS, M., DE HARO, C., SANZ, A., TRENZADO, C. E., VILLARECES, S., & BARROSO, F. G. Nutritional evaluation of Tenebrio molitor meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 5, p. 943–955, 2016. <https://doi.org/10.1111/anu.12313>

SANTOS, J. F., CASTRO, P. F., LEAL, A. L. G., DE FREITAS JÚNIOR, A. C. V., LEMOS, D., CARVALHO, L. B., & BEZERRA, R. S. Digestive enzyme activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L) submitted to different dietary levels of shrimp protein hydrolysate. **Aquaculture International**, v. 21, n. 3, p. 563–577, 2013. DOI: 10.1007/s10499-012-9589-2

ZAR, Jerrold H. **Biostatistical analysis: Pearson new international edition**. Pearson Higher Ed, 2013. ISBN: 9781292024042.

PARASITISMO EM PEIXES: HELMINTOS PARASITOS E OS RISCOS POTENCIAIS

Gabriel Domingos Carvalho¹; Paula Zambe Azevedo²; Rosali Barboza Cavalline³; Mylena Amorim de Souza⁴.

RESUMO

Os parasitos de peixes abrangem uma grande fonte de pesquisas tanto do ponto de vista biológico e ecológico como econômico. É importante compreender o ciclo de vida e a biologia dos parasitos, além de se obter conhecimento sobre as espécies de peixes parasitadas. O pescado pode ser um veículo de transmissão de organismos patogênicos para os consumidores e a identificação das espécies de peixes alvo de parasitos é um ponto crítico de controle fundamentado cientificamente. Dessa forma, este trabalho apresenta as principais características biológicas e morfológicas dos principais grupos de helmintos parasitos do pescado, de forma a auxiliar na identificação destes organismos e também dos riscos relacionados à ocorrência do parasitismo em espécies de pescado para consumo humano. O entendimento das relações parasito-hospedeiro é de fundamental importância para os profissionais que trabalham nesta área, uma vez que os parasitos causam prejuízos diretos e indiretos na cadeia produtiva do pescado.

Palavras-chave: Acanthocephala. Cestoda. Digenea. Monogenea. Nematoda.

ABSTRACT

Fish parasites are a major source of research both biologically and ecologically as well as economically. It is important to understand the life cycle and biology of the parasites, in addition to gaining knowledge about the species of parasitized fish. Fish can be a vehicle for the transmission of pathogenic organisms to consumers and the identification of fish species targeted by parasites is a critical point of scientifically-based control. Thus, this work presents the main biological and morphological characteristics of the main groups of helminth parasites in fish, in order to assist in the identification of these organisms and the risks related to the occurrence of parasitism in fish species for human consumption. Understanding host-parasite relationships is of fundamental importance for professionals working in this area, since parasites cause direct and indirect damage to the fish production chain.

Keywords: Acanthocephala. Cestoda. Digenea. Monogenea. Nematoda.

¹ Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa. Professor do Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/3227868849279669>. gabriel.carvalho@ifes.edu.br.

² Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Espírito Santo. <http://lattes.cnpq.br/2236376389067802>. zambepaula@gmail.com.

³ Mestranda em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná. <http://lattes.cnpq.br/7826578181357248>. rosalicavalline@gmail.com.

⁴ Graduanda em Engenharia de Pesca pelo Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/8077837826964739>. mylemelody@gmail.com.

INTRODUÇÃO

O meio aquático é propício para a ocorrência de muitas doenças parasitárias, sendo que os peixes apresentam uma variada fauna parasitária, o que representa um ponto crítico devido aos riscos que podem ser gerados na saúde animal e na população humana consumidora de pescado (CARVALHO; CAVALINE; AZEVEDO, 2020). Os peixes são passíveis de serem infectados por inúmeras espécies de parasitos cujas dimensões podem variar de milésimos de milímetros até vários centímetros. Dentre estes, estão os protozoários e metazoários, que podem alojar-se na superfície corpórea (ectoparasitos) ou nos órgãos internos do peixe (endoparasitos) (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008).

O princípio básico da sanidade dos animais aquáticos continua sendo a consideração sobre as interações entre hospedeiro, patógeno e ambiente, que influenciam ou direcionam na ocorrência de doenças nos peixes (STENTIFORD *et al.*, 2017). Nas últimas décadas houve um aumento dos estudos relacionados a parasitos e outros patógenos de organismos aquáticos, principalmente daqueles hospedeiros com potencial para o cultivo e para a comercialização, mediante ao crescente aumento da aquicultura no Brasil e no mundo. Com a intensificação do cultivo e extrativismo de peixes tem aumentado a observação de ocorrência de doenças parasitárias nesses hospedeiros (LUQUE, 2004). Tais doenças, além do prejuízo econômico também podem colocar em risco a saúde humana. Faz-se necessário a realização de estudos sistemáticos sobre a incidência e o registro dos parasitos que acometem as populações de peixe na região, bem como identificar os agentes parasitários com potencial zoonótico, os quais colocam em risco a saúde da população humana consumidora de pescado (CAVALINE, 2019).

Há um considerável quantitativo de pesquisas relacionadas à parasitos de peixes marinhos e de água salobra na América do Sul. Contudo, muitos dados ainda estão dispersos, causando certa dificuldade a quem queira desenvolver atividades na área, como, por exemplo, saber a qual grupo taxonômico os parasitos pertencem, saber em quais hospedeiros ocorrem o parasitismo, bem como se há registros destes em determinados países (EIRAS; VELLOSO; PEREIRA JR, 2017).

Sendo assim, este capítulo apresenta as principais características biológicas e morfológicas dos principais grupos de helmintos parasitos do pescado, de forma a auxiliar na identificação destes organismos, bem como identificar os riscos da ocorrência de algumas espécies de parasitos no pescado para consumo humano.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esta revisão contou com um levantamento de informações feito em bases de dados científicos como *Science Direct*, *Springer*, *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *Google Scholar* e bibliotecas públicas. Foram considerados artigos científicos, livros, teses de doutorado e dissertação de mestrado, utilizando-se como buscadores os termos: Acanthocephala, Cestoda, Digenea, Hirudinea, Monogenea, Nematoda e helmintos parasitos do pescado.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Parasitismo no pescado

Os ecossistemas aquáticos são ambientes muito dinâmicos e, mudanças nos fatores ambientais alteram os níveis de tolerância dos hospedeiros aos agentes causadores de doenças. Algumas dessas mudanças ocorrem tanto por meio da atividade humana direta (represas, expansão da comunidade, poluição, transporte marítimo, turismo, introdução de novas espécies, etc.), quanto por impactos não humanos (mudanças climáticas, furacões, proliferação de algas, etc.), que podem favorecer o surgimento de doenças, inclusive às de etiologia parasitária (FAO, 2020).

Os parasitos podem ou não ter especificidades parasitárias. Tal especificidade existe quando um parasito só pode desenvolver-se em uma determinada espécie de hospedeiro, ou em um conjunto limitado de espécies. Ao contrário, um parasito não específico pode utilizar um grande número de espécies diferentes para hospedar, tendo assim uma grande vantagem para realizar o parasitismo (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008).

Parasitos e patógenos possuem uma relação de equilíbrio não somente com a flora, mas também com a fauna, em específico com peixes, podendo esse equilíbrio se romper através de alterações ecológicas, como o aumento de concentrações de substâncias tóxicas, a exemplo do gás carbônico (CO₂). Quando se tem um crescimento desalinhado de parasitos, este efeito pode estar coligado também a qualidade da água, propiciando na manifestação de doenças e parasitoses no pescado (KUBITZA e KUBITZA, 2004).

A forma com que os peixes se comportam como hospedeiro varia de acordo com o ciclo de vida de cada parasito, podendo ser hospedeiro definitivo, quando os parasitos estão na fase madura, ou seja, em sua vida adulta, ou hospedeiro intermediário, quando hospeda as larvas ou os parasitos em fase assexuada, ou ainda

como hospedeiro de transporte, onde não há desenvolvimento do parasito no peixe, ele age como um veículo de refúgio do parasito até outro hospedeiro definitivo (RODRIGUES *et al.*, 2013).

O ciclo de vida dos ictioparasitos são complexos, não sendo transmitidos de peixe para peixe de forma direta, necessitando de hospedeiros intermediários para seu desenvolvimento. Os primeiros hospedeiros geralmente são os crustáceos, em consequente os peixes marinhos como os secundários, enquanto como hospedeiro definitivo para o parasito sexualmente maduro estão os mamíferos, podendo haver a ocorrência de um ou mais estágios de vida livre. O homem infectado pode entrar como parte do ciclo de vida desses parasitos ou constituir uma via paralela, dando continuidade no ciclo de vida dos mesmos (HUSS, 1997).

Os parasitos, em sua maioria, causam lesões severas nos peixes quando estes estiverem em grandes quantidades ou acometidos nos órgãos vitais. Contudo, em pequenas quantidades também podem vir a causar danos, já que, alguns se alimentam de sangue, principalmente em pós-larvas e pequenos alevinos. Estas lesões parasitológicas podem servir como porta de entrada para infecções secundárias ocasionadas por outros organismos patogênicos, como bactérias, fungos e vírus (KUBITZA e KUBITZA, 2013). De forma geral, os parasitos podem infestar diferentes órgãos dos peixes. Conhecer a diversidade destes se faz relevante para adquirir produtos de qualidade. A duração da exposição, a intensidade da infecção, as complicações e o comprometimento da integridade do peixe ocasionadas pelo parasito são os fatores responsáveis pelas injúrias ocorrentes (CAMPOS; MORAES; MORAES, 2011).

Os parasitos são organismos que se fixam no hospedeiro e os danos causados dependerá da espécie e do número de parasitos envolvidos, bem como o sítio de fixação. O diagnóstico se dá, em sua maioria, através de observação nas cavidades e órgãos e por microscopia utilizando luz para identificação morfológica. Já a identificação da espécie se dá através de um especialista que avalia a patogenia e se apresenta característica zoonótica (RODRIGUES *et al.*, 2013).

Os principais grupos de parasitos de peixes que ocorrem com maior frequência no Brasil são os helmintos monogenéticos, digenéticos, cestoides, nematoides, além dos acantocéfalos e hirudíneos, como os grupos que ocorrem com maior frequência no Brasil (LUQUE, 2004).

Diversidade parasitária no pescado

Filo Annelida

Classe Hirudinea

Os anelídeos são vermes celomados segmentados com uma parede corporal muscular. Apenas um grupo (Classe Hirudinea), o das sanguessugas, que são ectoparasitos importantes em peixes, principalmente como vetores de outros patógenos. As sanguessugas têm corpo segmentado com ventosas anteriores e posteriores, podendo haver manchas oculares anteriormente. O corpo pode ser redondo ou um pouco achatado dorsoventralmente. O ciclo de vida das sanguessugas é direto. Os adultos colocam casulos, que são presos a um substrato ou, em algumas famílias, mantidos pelos pais e, os jovens sanguessugas saem dos casulos. Algumas sanguessugas completam seu ciclo de vida em menos de um ano, enquanto outras podem levar vários anos. A Classe Hirudinea inclui as Famílias Piscicolidae e Glossiphoniidae (ROBERTS, 2012).

Filo Acanthocephala

Classes Palaeacanthocephala e Eoacanthocephala

Os acantocéfalos compreendem quatro classes e apenas duas (Palaeacanthocephala e Eoacanthocephala) contêm membros parasitos de peixes. São vermes cilíndricos alongados, armados com uma probóscide anterior retrátil e com ganchos, em uma grande variedade de padrões. Não há intestino e os sexos são separados. Esses parasitos necessitam de pelo menos um artrópode hospedeiro intermediário em seu ciclo de vida (ROBERTS, 2012).

São animais que possuem o probóscide repleto de espinhos e que em grandes infestações resultam a um peixe necrosado e ulceração do epitélio intestinal. Os crustáceos estão presentes no seu ciclo de vida como hospedeiros intermediários, sendo o peixe hospedeiro definitivo quando o parasito se encontra apto a reprodução por estar maturo (KUBITZA e KUBITZA, 2004). Como esses parasitos não possuem tubo digestivo, os adultos são encontrados no intestino de peixes, para a absorção dos nutrientes, enquanto as larvas se distribuem por diversos órgãos, principalmente no fígado e mesentério das espécies que agem como hospedeiras de transporte (EIRAS; TAKEMOTO; PAVANELLI, 2006).

São os organismos que menos causam danos aos peixes. Contudo, esses parasitos lesionam o intestino do hospedeiro, que ao depender do tamanho podem atravessá-lo e atingir órgãos internos, causando peritonite. A fixação da probóscide através de ganchos pode gerar inflamações (RODRIGUES *et al.*, 2013).

Eiras, Velloso e Pereira Jr (2017) relatam 28 espécies de Acanthocephala distribuídas em 8 Famílias e 4 Ordens, com ocorrência em 62 espécies de peixes marinhos e estuarinos da América do Sul. Esses autores relatam que apenas no Brasil, Argentina, Uruguai, Chile e Peru há publicações disponíveis sobre esta interação hospedeiro-parasito (EIRAS; VELLOSO; PEREIRA Jr, 2017).

Filo Platyhelminthes

Os platelmintos são comumente conhecidos como “vermes chatos”. Os membros deste filo são achatados dorso-ventralmente, bilateralmente simétricos e acelomados. Geralmente não têm um ânus, nem sistemas “esqueléticos” de sustentação, bem como sistemas circulatórios e respiratórios especializados. A grande maioria dos platelmintos é monoica (ou seja, os sistemas reprodutivos masculino e feminino ocorrem no mesmo indivíduo) (ROBERTS, 2012).

Classe Monogenea

Os platelmintos monogenéticos são, principalmente, ectoparasitos sem hospedeiros intermediários envolvidos no seu ciclo de vida. São pequenos vermes raramente excedendo 3 cm de comprimento. Todos possuem um órgão posterior de fixação conhecido como haptor, armado com ganchos e/ou pinças ou ventosas. A Classe Monogenea compreende duas Subclasses: Monopisthocotylea e Polyopisthocotylea. Estas são diferenciadas com base no modo de fixação e de alimentação, a primeira geralmente causa danos mais significativos ao se prender a superfícies delicadas e se alimentar do tecido desgastado, enquanto a última geralmente espolia as lamelas das brânquias, extraindo sangue dos vasos subjacentes com pouco trauma (ROBERTS, 2012).

O prejuízo causado por este grupo nos peixes está relacionado com a espécie do parasito, o local de infestação, o número de parasitos e o tipo de alimentação do parasito. Os mais comuns monogenéticos são os Girodactilídeos e os Dactilogirídeos (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008). Alguns estudos relacionam o parasitismo por algumas espécies de Monogenea ao estado ontogenético do peixe hospedeiro,

em que os adultos são, notadamente, mais afetados. Essa incidência está relacionada à maior área de superfície branquial, que oferece uma ampla disponibilidade de sítios de infecção e áreas de oxigenação, além do maior tempo de confinamento, no caso dos adultos viabilizando o aporte de mais parasitos no ambiente de criação (FERNANDES *et al.*, 2019).

Classe Digenea

Os digenéticos são endoparasitos que se caracterizam por possuírem duas ventosas na superfície do corpo (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008), uma na extremidade anterior e outra ventralmente localizada, geralmente na metade anterior do corpo (ROBERTS, 2012) e que apresentam órgãos de fixação musculares pouco desenvolvidos (LUQUE, 2004).

O ciclo biológico desses parasitos é indireto, podendo incluir até dois hospedeiros intermediários. Os peixes apresentam uma qualidade singular: podem agir como segundo hospedeiro intermediário (portando as metacercárias) e como hospedeiros definitivos destes parasitos. Grande parte das espécies de importância patogênica pertencem às Famílias Diplostomidae e Clinostomidae, cujas metacercárias ficam encistadas na superfície corporal e órgãos internos dos peixes, provocando várias lesões (LUQUE, 2004; ROBERTS, 2012).

O tamanho destes parasitos possui grande variedade, podendo medir de 1mm, estes merecendo uma certa atenção ao se examinar os órgãos internos, a vários cm de comprimento. A presença de pontos brancos, amarelos ou pretos podem indicar a incidência de larvas encistadas. Com isso, deve-se romper os cistos para liberar e coletar os parasitos (EIRAS; TAKEMOTO; PAVANELLI, 2006).

Os parasitos digenéticos são importantes sob o ponto de vista zoonótico e da inspeção de pescado, e o Programa de Perigos e Pontos Críticos de Controle (PPPCC) estabelece medidas de controle para peixes provenientes de locais endêmicos. Os principais trematódeos, sob o ponto de vista da saúde pública, são os dos Gêneros *Clonorchis*, *Opisthorchis*, *Metagonimus*, *Heterophyes* e *Paragonimus*, com casos humanos registrados no Brasil (BARROS; MENDES; SANTOS, 2002). Espécies das Famílias Opisthorchiidae, Heterophyidae e Paragonimidae são os principais parasitos marinhos que possuem potencial zoonótico e de alertas por causarem problemas de saúde pública no Brasil (RODRIGUES *et al.*, 2013).

Classe Cestoda

Os cestoides são endoparasitos com pelo menos um hospedeiro intermediário em seu ciclo de vida. Possuem três regiões morfológicas distintas, o estróbilo, colo e escólex. Normalmente, o corpo (estróbilo) é subdividido em vários segmentos (proglotes), cada um contendo um único conjunto de órgãos reprodutivos. Na Ordem Caryophyllidea, o corpo não é segmentado e um escólex (órgão de fixação) está presente na extremidade anterior. Os adultos são geralmente de cor branca e podem ser muito alongados. O escólex dessas larvas está totalmente desenvolvido, mas o estróbilo é relativamente curto e não segmentado (ROBERTS, 2012). Esses vermes são conhecidos vulgarmente como tênia e possuem o corpo em formato de fita com segmentos (proglotes) que abrigam os órgãos dos parasitos que são hermafroditas (RODRIGUES *et al.*, 2013).

Os peixes podem servir como hospedeiro intermediário ou definitivo dos cestodas (RODRIGUES *et al.*, 2013). Na fase larval, os cestodas comumente são encontrados encistados na musculatura e vísceras dos hospedeiros. Na fase adulta, encontram-se no sistema digestório dos animais parasitados, uma vez que são animais que não possuem sistema digestório próprio, este sítio de localização no organismo do hospedeiro facilita a absorção de nutrientes por parte do parasito (PAVANELLI *et al.*, 2015).

Os cestoides de peixes têm um ciclo de vida envolvendo pelo menos um outro hospedeiro. Os peixes podem servir como hospedeiros finais ou intermediários. O ciclo de vida dos cestoides é relativamente complexo, podendo ter de dois até quatro hospedeiros. Peixes ósseos marinhos abrigam especialmente formas larvais, poucas espécies de cestoides conseguem desenvolver a forma adulta nesses hospedeiros. Peixes cartilagosos, aves e mamíferos piscívoros atuam como hospedeiro definitivo para os parasitos já maturados (EIRAS; VELLOSO; PEREIRA JR, 2017).

A Classe Cestoda inclui as ordens Proteocephalidea, Pseudophyllidea, Tetrphyllidea, Trypanorhynchidea e Caryophyllidea (ROBERTS, 2012). Os cestodas da Ordem Trypanorhyncha representam diversas espécies de parasitos associados a peixes e invertebrados marinhos (DIAS; SÃO CLEMENTE; KNOFF, 2010), conferindo aspecto desagradável ao pescado, o que gera uma perda econômica visto que são descartados (SÃO CLEMENTE *et al.*, 2011). Algumas espécies marinhas da ordem Pseudophyllidea, como as do gênero *Diphyllbothrium*, são zoonóticas (BARROS; MENDES; SANTOS, 2002).

A Ordem Proteocephalidea é o grupo mais característico de cestoides que parasitam peixes teleósteos de água doce como hospedeiros definitivos, conhecidos como “tênia dos peixes”. Seu ciclo é indireto e com dois hospedeiros intermediários. São encontrados no intestino e raramente provocam patogenia, embora algumas espécies podem provocar danos sérios ao epitélio intestinal perfurando o intestino do peixe provocando hemorragias de grande extensão (LUQUE, 2004).

Filo Nematoda

Os nematoides são organismos pseudocelomados bilateralmente simétricos, corpo filiforme cilíndrico e sem segmentação, alongado e com extremidades afiladas. São dioicos, sexualmente dimórficos, e têm ciclos de vida complexos, muitas vezes envolvendo um ou mais hospedeiros intermediários. Geralmente são vermes alongados com um corpo cilíndrico afilando em ambas as extremidades, com boca terminal, anteriormente ao corpo, e possui o trato digestório dividido em esôfago e intestino. A maioria dos nematoides dos peixes são ovíparos, sendo que as fêmeas das ordens Camallanoidea (*Camallanus*) e Dracunculoidea (*Philometra*) são vivíparas e liberam larvas diretamente na água (ROBERTS, 2012).

Os nematódeos são o maior grupo de parasitos em peixes, contudo são espécies que representam pouco perigo patogênico. Seu ciclo biológico é indireto podendo haver interação com hospedeiros intermediários vertebrados ou invertebrados, como os copépodes (EIRAS; VELLOSO; PEREIRA JR, 2017).

Nos peixes, que agem como hospedeiros intermediários, os parasitos adultos normalmente se fixam no tubo digestório e as larvas podem encistar-se em outros órgãos como musculatura e mesentério. Os danos de parasitismo vão desde a inflamação na localidade fixada, edema, necrose, granulomas, até maiores prejuízos, como levá-los à mortalidade, além do retardo do crescimento em caso de cultivo, zoonoses e diminuição do valor agregado do pescado pela presença desses indivíduos (RODRIGUES *et al.*, 2013).

Embora seja o maior grupo de parasitos de peixes, os nematoides são considerados, de forma geral, espécies pouco patogênicas (LUQUE, 2004). As principais Famílias de Nematoda de peixes são Trichuroidea, Ascaridoidea, Spiruroidea e Dioctophymatoidea (ROBERTS, 2012). As Famílias Anisakidae (*Anisakis* spp., *Pseudoterranova* spp., *Contracaecum* spp.), Raphidascarididae (*Hysterothylacium* spp.), Gnathostomatidae (*Gnathostoma* spp.), Capillariidae

(*Capillaria philippinensis*) destacam-se nesta classe por compreenderem os parasitos mais ocorrentes e caracterizados por ocasionar zoonoses ao homem (PAVANELLI *et al.*, 2015).

As principais espécies com importância zoonótica são, em água doce as larvas de *Eustrongylides* sp., frequentemente encontradas em traíras (*Hoplias malabaricus*) e as formas adultas encontradas em aves ciconiformes e, em peixes marinhos, as larvas de anisakídeos (*Anisakis* sp.), que podem ser encontradas nas vísceras e eventualmente na musculatura, e seus hospedeiros definitivos podem ser mamíferos ou aves piscívoras (LUQUE, 2004).

Apesar de várias espécies de importância na Família Anisakidae, as mais frequentes são *Anisakis simplex*, conhecido como “verme do arenque”, e *Pseudoterranova decipiens*, “verme do bacalhau” (FAO, 2014). Alves e Da Silva Santos (2016) relataram a ocorrência de *Anisakis simplex* em musculatura de bacalhau comercializado no estado do Rio de Janeiro. Um trabalho desenvolvido por Luque e Poulin (2004) registrou larvas de *Anisakis* sp. em 15 espécies de peixes litoral do estado do Rio de Janeiro e Knoff *et al.* (2007), relatou a ocorrência de larvas de *Anisakis* sp. na musculatura de congro-rosa (*Genypterus brasiliensis*), no estado do Rio de Janeiro.

Infecções parasitárias e riscos potenciais

O parasitismo pode ser danoso à saúde dos peixes, causando perdas econômicas aos produtores, pescadores, comerciantes, peixeiros e indústrias e, o desconhecimento sobre os parasitos pode, além dos prejuízos econômicos na cadeia produtiva do pescado, colocar em risco a saúde dos consumidores (CARVALHO; CAVALINE; AZEVEDO, 2020).

Dentre os problemas existentes no âmbito da saúde pública, destacam-se as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Poucos são as regiões do Brasil que possuem estatísticas e dados oriundos de problemas gerados por DTA, suas causas, os alimentos comprometidos e população de risco. Por haver agentes etiológicos que são assintomáticos ou sintomas leves, muitos casos acabam não sendo relatados pelas vítimas (DOS SANTOS, 2010). Conforme apontado por Huss (1997), é através do consumo de pescado cru ou malcozidos que os parasitos prejudiciais ao homem são transmitidos.

Apesar da existência de leis para prevenção, controle e dimensionamento dos parasitos, o processo de fiscalização, deve ser ativo, além promover também uma aproximação com os profissionais que atuam como manipuladores do pescado, informando-os e os capacitando sobre os riscos potenciais da presença dos parasitos neste produto (CARVALHO; CAVALINE; AZEVEDO, 2020).

No final do século XX, Masson e Pinto (1998) relataram que apesar de não haver estatísticas oficiais, muitos casos dessas enfermidades associadas a parasitoses do pescado são registrados nas regiões Sul e Sudeste. Mesmo com o passar do tempo é escasso as informações ministeriais sobre casos de infecções ou mortes ocorrentes por parasitos de pescado. Pavanelli *et al.* (2015) descreve que a baixa frequência de relatos zoonóticos pode estar relacionada com o consumo de pescado que ainda é baixo no Brasil e há a dificuldade no diagnóstico pois, na área da saúde os conhecimentos sobre não estão atualizados.

Muitos são os parasitos que infectam o pescado, entretanto, apenas um número reduzido deles pode causar doenças no homem. Entre estes destacam-se por sua maior incidência e patogenicidade helmintos pertencentes às Famílias Opisthorchiidae, Heterophyidae e Paragonimidae (trematódeos), Anisakidae e Gnathostomidae (nematódeos) e Diphyllbothridae (cestoides) (DOS SANTOS, 2017). Os trematódeos e nematódeos estão englobados dentro dos helmintos mais comuns que podem ser ingeridos através do consumo de alimentos derivados de peixe cru, malcozidos ou que não estão congelados e, infectados (MASSON e PINTO, 1998). No Quadro 1 estão destacados os principais parasitos helmínticos do pescado que provocam doenças em humanos, tendo como base os dados apresentados por Huss (1997).

Alguns parasitos de peixes (Quadro 2) estão inclusos na Lista de Classificação de Risco dos Agentes Biológicos do Ministério da Saúde, na mesma classe que o vírus da rubéola e da esquistossomose, classe de risco 2 (moderado risco individual e limitado risco para a comunidade). Estes, inclui agentes biológicos que podem vir a ocasionar infecções e seu potencial de disseminar e propagar no ambiente é limitado devido a existência de medidas de saneamento e controle dos parasitos. Os helmintos, em especial, possuem uma vasta distribuição geográfica e referidos como zoonoses emergentes. O intuito da lista visa atualizar aos agentes em trabalho para um maior cuidado e atentar ao alerta para o risco (BRASIL, 2017).

A popularização e a cultura de consumo de peixe cru vêm aumentando mundialmente juntamente com a aparição de doenças que eram pouco relatadas em locais como Argentina (MENGHI *et al.*, 2006). Dentre os parasitos que necessitam de atenção na saúde pública, por possuir potencial zoonótico, destacam-se difilobotríase ou difilobotriose, provocada pelo *Diphyllobothrium latum*, e os nematoides da Família Anisakidae por causarem surtos de origem alimentar provenientes do consumo de pescado (MENGHI *et al.*, 2006; SALGADO, 2010).

Quadro 1 - Parasitos patogênicos aos humanos transmitidos pelo pescado.

Parasitos	Distribuição Geográfica	Tipo de pescado parasitado	Referências
Nematódeos			
<i>Anisakis simplex</i>	Atlântico Norte, Brasil	Arenque, Bacalhau, Congro-rosa (<i>Genypterus brasiliensis</i>)	Huss (1997); Alves e Santos (2016), Knoff <i>et al.</i> (2007)
<i>Pseudoterranova</i> sp.	Atlântico Norte, Brasil	Bacalhau, Peixe espada (<i>Trichiurus lepturus</i>), Anchoa (<i>Pomatomus saltatrix</i>), Congro-rosa (<i>Genypterus brasiliensis</i>)	Huss (1997); Borges <i>et al.</i> (2015); Knoff <i>et al.</i> (2007)
<i>Gnathostoma</i> sp.	Ásia, Brasil	Peixe de água doce, rãs	Huss (1997); Dani <i>et al.</i> (2009)
<i>Capillaria</i> sp.	Ásia	Peixe de água doce	Huss (1997)
<i>Angiostrongylus</i> sp.	Ásia, América do Sul, África	Camarões de água doce, caracóis, peixes	Huss (1997)
Cestodas			
<i>Diphyllobothrium latum</i>	Hemisfério Norte, Brasil	Peixe de água doce, Salmão	Huss (1997); Dias <i>et al.</i> (2016); Oliveira <i>et al.</i> (2017)
<i>Diphyllobothrium pacificum</i>	Peru, Chile, Japão, Brasil	Peixe de água salgada, Salmão	Huss (1997); Oliveira <i>et al.</i> (2017)
Trematódeos			
<i>Clonorchis</i> sp.	Ásia	Peixe de água doce, caracóis	Huss (1997)
<i>Opisthorchis</i> sp.	Ásia	Peixe de água doce	Huss (1997)
<i>Metagonimus yokogawai</i>	Extremo Oriente	-	Huss (1997)
<i>Heterophyes</i> sp.	Médio Oriente, Extremo Oriente	Caracóis, peixe de água doce e salobra	Huss (1997)
<i>Paragonimus</i> sp.	Ásia, América, África	Caracóis, crustáceos, peixes	Huss (1997)
<i>Echinostoma</i> sp.	Ásia	Amêijoas, peixe de água doce, caracóis	Huss (1997)

Fonte: Elaborado pelos autores com base em Huss (1997).

Quadro 2 - Parasitos listados na Classificação de Risco dos Agentes Biológicos do Ministério da Saúde - Classe de Risco 2.

Classe	Espécie
Trematoda	<i>Clonorchis sinensis</i> <i>Echinostoma</i> sp. <i>Heterophyes</i> sp. <i>Metagonimus yokogawai</i>

	<i>Metorchis conjunctus</i> <i>Opisthorchis felineus</i> <i>Opisthorchis viverrini</i> <i>Paragonimus westermani</i>
Cestoda	<i>Diphyllbothrium pacificum</i>
Nematoda	<i>Angiostrongylus cantonensis</i> <i>Anisakis simplex</i> <i>Capillaria philippinensis</i> <i>Gnathostoma binucleatum</i> <i>Gnathostoma spinigerum</i>

Fonte: Brasil (2017).

Na América do Sul, a difilobotriose é comum especialmente nas costas Chilena e Peruana e menos frequente na Argentina (EIRAS; VELLOSO; PEREIRA JR, 2017). No Brasil, a doença era inexistente até o ano de 2004. É necessário a notificação dos casos diagnosticados, a fim de que os dados obtidos possam refletir o real número de pessoas afetadas por esta parasitose (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

O levantamento dos casos de zoonoses parasitárias por pescado tem aumentado no Brasil. Pode-se destacar a ocorrência de Anisakiase, principalmente na região sudeste. No estado de São Paulo foram relatados 44 casos de doenças, como a difilobotríase, no Centro de Epidemiologia entre os anos de 2004 e 2005, associada ao consumo de peixe cru (PAVANELLI *et al.*, 2015).

O conhecimento das espécies de pescado com maior probabilidade de serem parasitadas, assim como o tipo de parasito encontrado, os estágios mais comuns, o sítio de atuação e as ações corretivas a serem aplicadas, são fundamentais para um controle efetivo destes organismos indesejáveis (CARVALHO; CAVALINE; AZEVEDO, 2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prevenção ainda continua sendo a melhor forma de se evitar infecções parasitárias incidentais. Um controle eficaz sobre a presença de parasitos com potencial zoonótico começa com uma fiscalização efetiva dos serviços de vigilância municipal e inspeção federal, que atuam nas indústrias e estabelecimentos comerciais do pescado.

É importante ressaltar que incentivos à programas de orientação sobre os parasitos do pescado, buscando informar sobre a importância de se ingerir um alimento seguro e livre de parasitos é fundamental, tanto para os consumidores como para os profissionais que trabalham a cadeia produtiva do pescado.

AGRADECIMENTOS

Aos cursos de graduação em Engenharia de Pesca e Pós-graduação em Controle de Qualidade e Segurança de Alimentos do Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes Campus Piúma.

REFERÊNCIAS

ALVES, Dimitri Ramos; SANTOS, Daniela da Silva. Ocorrência de *Anisakis simplex* (nematoda: anisakidae) em bacalhau comercializado em Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos UniFOA**, v. 11, n. 31, p. 131-140, 2016.

BARROS, Glênio Cavalcanti de; MENDES, Emiko Shinozaki.; SANTOS, Fernando Leandro dos. Patologia dos peixes. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 26, p. 44-56, 2002.

BORGES, Juliana N.; CUNHA, Luiz F. G.; MIRANDA, Daniele F.; MONTEIRO NETO, Cassiano; SANTOS, Cláudia P. Molecular studies on larvae of *Pseudoterranova* parasite of *Trichiurus lepturus* Linnaeus, 1758 and *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) off Brazilian waters. **Acta parasitologica**, v. 60, n. 4, p. 649-653, 2015.

BRASIL. **Classificação de risco dos agentes biológicos**. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

CAMPOS, Cristiane Meldau de; MORAES, Julieta Rondini Engrácia de; MORAES, Flávio Ruas de. Histopathology of gills of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) infested by monogenean and myxosporea, caught in Aquidauana River, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 67-70, 2011.

CARVALHO, Gabriel Domingos; CAVALINE, Rosali Barboza; AZEVEDO, Paula Zambe. A falta de fiscalização e o risco do desconhecimento sobre a ocorrência de parasitos no pescado em peixarias. *In: Inovação e pluralidade na medicina veterinária 2*. PEREIRA, Alécio Matos; REIS, Sara Silva; PEREIRA, Wesklen Marcelo Rocha (org.). Ponta Grossa: Atena, 2020. p. 6-19.

CAVALINE, Rosali Barboza. **Percepção sobre a ocorrência de parasitos em peixes marinhos em Piúma – ES**. 2019. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Pesca) - Instituto Federal do Espírito Santo, Piúma, 2019.

DANI, Christiane Maria de Castro; MOTA, Karina Frias; SANCHOTENE, Paola Vizcahipi; PIÑEIRO-MACEIRA, Juan; MAIA; Cláudia Pires Amaral. Gnatostomíase no Brasil - Relato de caso. **An Brasil Dermatol**, v. 84, p. 400-404, 2009.

DIAS, Anderson Silva; OLIVEIRA JUNIOR, Luiz Antônio Trindade de; LAFAYETTE, Erica de Paula; MELOTTI, Vitor Dalmazo. Ocorrência de difilobotriose em um

paciente no sul do Estado do Espírito Santo. **Revista de Medicina e Saúde de Brasília**, v. 5, n. 3, 2016.

DIAS, Fátima de Jesus Esteves; SÃO CLEMENTE, Sérgio Carmona; KNOFF, Marcelo. Nematóides anisacídeos e cestóides Trypanorhyncha de importância em saúde pública em *Aluterus monoceros* (Linnaeus, 1758) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 94-97, 2010.

DOS SANTOS, Carlos Alberto Muylaert Lima. Doenças transmitidas por pescado no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 32, n. 4, p. 234-241, 2010.

DOS SANTOS, Carlos Alberto Muylaert Lima. Doenças Parasitárias Associadas ao Consumo de Pescado no Brasil: Incidência e Epidemiologia. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 270/271, 2017.

EIRAS, Jorge C.; VELLOSO, Ana Luiza; PEREIRA JR, Joaber. **Parasitas de peixes marinhos da América do Sul**. Rio Grande: Ed. FURG. 2017.

EIRAS, Jorge C.; TAKEMOTO, Ricardo M.; PAVANELLI, Gilberto C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. 2. ed. rev. ampl. Maringá: Eduem, 2006.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Sustainability in action. Rome: FAO, 2020.

FAO. **Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites**. Rome: FAO, 2014.

FERNANDES, Manoela; BERTAGLIA, Elisabeth; FURTADO, William; MILAGRES, Thalita; CARDOSO, Lucas; Pereira, SCHEILA; BRASIL, Elenice; SILVA-SOUZA, Angela; LATERÇA Maurício Martins. Prevalência de Monogenea relacionada com o estágio ontogenético de *Oreochromis niloticus* cultivadas em tanques-rede. In: XVII Semana, 2019. Anais [...]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.

HUSS, H. H. **Garantia da qualidade dos produtos da pesca**. Roma: FAO, 1997.

KNOFF, Marcelo; DE SÃO CLEMENTE, Sergio Carmona; FONSECA, Michelle Cristie Gonçalves da; ANDRADA, Caroline Del Giudice de; PADOVANI, Rodrigo do Espírito Santo; GOMES, Delir Correa. Anisakidae parasitos de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil de interesse na saúde pública. **Parasitología Latinoamericana**, v. 62, n. 3-4, p. 127-133, 2007.

KUBITZA, Fernando; KUBITZA, Ludmila Medeiros Moreira. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. 4. ed. Jundiaí: Kubitza. 2004.

KUBITZA, Fernando; KUBITZA, Ludmilla Medeiros Moreira. **Saúde e manejo sanitário na criação de tilápias em tanques-rede**. Jundiaí: Kubitza, 2013.

LUQUE, José Luis. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 161-165, 2004.

LUQUE, José L.; POULIN, Robert. Use of fish as intermediate hosts by helminth parasites. **Acta Parasitologica**, v. 49, n. 4, p. 353-361, 2004.

MASSON, Maria Lúcia; PINTO, Roger de Almeida. Perigos potenciais associados ao consumo de alimentos derivados de peixe cru. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, Curitiba**, v. 16, n. 1, p. 71-84, 1998.

MENGHI, Claudia Irene; GATTA, Claudia Liliana; VELASCO, Alberto; MÉNDEZ, Oscar César. Difilobotriosis humana: primer caso por consumo de sushi en Buenos Aires, Argentina. **Parasitología latinoamericana**, v. 61, n. 3/4, p. 165-167, 2006.

OLIVEIRA, Stéphanhy Sallomé Sousa *et al.* Estudo do número de casos de difilobotriase no Brasil. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 13, n. 2, p. 29-38, 2017.

OSUMI, Magdalena. *Anisakis* infections from raw fish on rise, health ministry warns. **The Japan Times News**. Tokyo, 12 maio 2017. p. 1-1.

PAVANELLI, Gilberto Cezar *et al.* **Zoonoses humanas transmissíveis por peixes no Brasil**. Maringá: UniCesumar, 2015.

PAVANELLI, Gilberto Cezar; EIRAS, Jorge Costa; TAKEMOTO, Ricardo Massato. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3. ed. Maringá: Eduem, 2008.

ROBERTS, Ronald J. **Fish Pathology**. Fourth Edition. Chichester: Wiley-Blackwell, 2012.

RODRIGUES, Ana Paula Oeda; LIMA, Adriana Ferreira; ALVES, Anderson Luis; ROSA, Daniele Kloppel; TORATI, Lucas Simon; SANTOS, Viviane Rodrigues V. dos (ed.). **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Brasília: Embrapa, 2013.

SALGADO, Raquel Lima. **Avaliação parasitológica do pescado fresco comercializado no sudeste do Pará**. 2010. 87 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Curso de Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.

SÃO CLEMENTE, Sérgio C. Parasitos em Pescado. *In*: GONÇALVES, Alex Augusto (Org.) **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia e Inovação**. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p. 85-93.

STENTIFORD, Grant D.; SRITUNYALUCKSANA, Kallaya; FLEGEL, Timothy W.; WILLIAMS, Bryony A. P.; WITHYACHUMNARNKUL, Boonsirm;

ITSATHITPHAISARN, Orn; BASS, David. New paradigms to help solve the global aquaculture disease crisis. **PLOS Pathogens**, v. 13, n. 2, 2017.

ASPECTOS IMPORTANTES SOBRE OS CRUSTÁCEOS ECTOPARASITOS DE PEIXES

Gabriel Domingos Carvalho¹; Paula Zambe Azevedo²; Rosali Barboza Cavalline³; Mylena Amorim de Souza⁴.

RESUMO

Os peixes são animais que apresentam uma variada fauna parasitária e, a falta de informações e o desconhecimento sobre os parasitos que acometem o pescado podem causar prejuízos aos produtores, pescadores, comerciantes, peixeiros e aos consumidores. Dessa forma, este trabalho apresenta as principais características dos grupos de crustáceos parasitos do pescado (Branchiura, Copepoda, Isopoda) no intuito de auxiliar os profissionais que atuam na cadeia produtiva do pescado, no que diz respeito à identificação destes agentes parasitários. O conhecimento das características biológicas e morfológicas são fundamentais para a identificação dos espécimes de parasitos que acometem o pescado, bem como o entendimento das relações parasito-hospedeiro, uma vez que estes causam prejuízos diretos e indiretos na cadeia produtiva do pescado.

Palavras-chave: Branchiura. Copepoda. Crustacea. Ictioparasitologia. Isopoda.

ABSTRACT

Fish are animals that have a varied parasitic fauna and the lack of information and the lack of knowledge about the parasites that affect fish can cause damage to producers, fishermen, traders, fishmongers and also to consumers. Thus, this work presents the main characteristics of the groups of fish parasitic crustaceans (Branchiura, Copepoda, Isopoda) in order to assist professionals that work in the fish production chain, with regard to the identification of these parasitic agents. The knowledge of the biological and morphological characteristics are fundamental for the identification of the parasite specimens that affect the fish, as well as the understanding of the parasite-host relationships, since they cause direct and indirect losses in the fish production chain.

Keywords: Branchiura. Copepoda. Crustacea. Ictioparasitology. Isopoda.

¹ Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa. Professor do Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/3227868849279669>. gabriel.carvalho@ifes.edu.br.

² Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Espírito Santo. <http://lattes.cnpq.br/2236376389067802>. zambepaula@gmail.com.

³ Mestranda em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná. <http://lattes.cnpq.br/7826578181357248>. rosalicavalline@gmail.com.

⁴ Graduanda em Engenharia de Pesca pelo Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes Campus Piúma. <http://lattes.cnpq.br/8077837826964739>. mylemelody@gmail.com.

INTRODUÇÃO

Os peixes são passíveis de serem infectados por inúmeras espécies de parasitos cujas dimensões podem variar de milésimos de milímetros até vários centímetros. Dentre estes, estão aqueles que podem se alojar na superfície corpórea (ectoparasitos) ou nos órgãos internos do peixe (endoparasitos) (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008).

Alguns crustáceos frequentemente parasitam os peixes, sendo que os grupos desses invertebrados mais importantes são os Branquiúros, Copépodes, Isópodes e, embora também, em peixes marinhos, uma espécie de Cirrípedes (*Anelasma squalicola*) e outros Anfípodes possam ter o mesmo comportamento, neste último caso como parasitos oportunistas ou facultativos (EIRAS e CASTRO, 2017).

É importante realçar a importância crescente que os crustáceos têm para as explorações aquícolas nas quais podem ser um fator fortemente limitativo, como se verifica com as infecções por *Lepeophtheirus salmonis* ou *Caligus elongatus* nas pisciculturas marinhas de salmonídeos na Noruega, bem como os elevados prejuízos provocados por *Caligus rogercressey* na produção final de salmonídeos em cultura na costa sul do Chile (BOXSHALL e BRAVO, 2000). Esse aspecto é extremamente importante devido à distribuição mundial desses e outros parasitos relevantes para a aquicultura (JOHNSON *et al.*, 2004). A maioria das explorações de piscicultura marinha, por ser feita em tanques flutuantes de rede, pela sua natureza, tornam quase impossíveis os processos profiláticos e dificultam enormemente os terapêuticos (EIRAS e CASTRO, 2017).

Os crustáceos parasitos são organismos altamente modificados cujos apêndices orais e natatórios têm se transformado em potentes órgãos de fixação ao hospedeiro, com as conseqüentes repercussões patogênicas (LUQUE, 2004). Uma estimativa aponta para cerca de 10.000 espécies de parasitos, e deste total aproximadamente 4.200 são ectoparasitas (EIRAS, 1994).

Dessa forma, este capítulo apresenta as principais características biológicas e morfológicas dos principais grupos de crustáceos parasitos do pescado (Branquiúros, Copépodes e Isópodes), no intuito de auxiliar os profissionais da área na correta identificação destes parasitos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esta revisão contou com um levantamento de informações feito em bases de dados científicos como *Science Direct*, *Springer*, *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *Google Scholar* e bibliotecas públicas. Foram considerados artigos científicos, livros, teses de doutorado e dissertação de mestrado, utilizando-se como buscadores os termos: Branchiura, Copepoda, Isopoda e crustáceos parasitos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Crustáceos parasitos

O filo Arthropoda é o filo animal mais diverso, com mais de 13.000.000 espécies descritas. Embora os insetos sejam a classe mais diversa dentro deste filo, a Classe Crustacea tem mais de 73.000 espécies descritas (ZHANG, 2013). Os crustáceos também incluem a maior diversidade de formas parasitárias, com mais de um quarto das espécies descritas. Tal como acontece com os parasitos em geral, os detalhes das histórias de vida da maioria dos crustáceos parasitos permanecem desconhecidos (WILLIAMS e BUNKLEY-WILLIAMS, 2019).

Os ectoparasitos são aqueles parasitos que possuem aderência superficial nos peixes e, ocasionam lesões pela fixação ou alimentação, aumento da produção do muco branquial, além de metaplasia e hiperplasia quando aderidos às brânquias. O muco impermeabiliza e impede que haja trocas gasosas, comprometendo a respiração. A fixação destes organismos causa desconforto e prurido, que levam aos peixes a se esfregarem e, com isso, lesionarem o tegumento, o que poderá servir como meio de entrada para infecções secundárias. Toda sua condição fisiológica é afetada através do estresse causado por esses parasitos (RODRIGUES *et al.*, 2013).

O quadro patológico das ectoparasitoses por crustáceos em peixes é variável, dependendo de vários fatores, sendo de modo geral três aspectos diferentes: danos causados pela pressão exercida pelos parasitos nos tecidos contíguos; danos mecânicos nos tecidos devido à fixação dos parasitos, dos quais são especialmente importantes os danos branquiais que levam à dificuldades respiratórias; e danos que podem ser locais ou generalizados, provocados pela alimentação do parasito à custas do hospedeiro. O ciclo de vida de quase todos as espécies de crustáceos parasitos de peixes é monoxeno (um único hospedeiro), conhecendo-se um número reduzido de espécies que exigem mais do que um hospedeiro para completar o ciclo vital, como

Lernaeocera branchialis ou *Lernaeenicus sprattae*, *Cardiodectes meduseus* (EIRAS e CASTRO, 2017).

Os crustáceos parasitos se fixam pelo tegumento, brânquias, narinas e reto dos hospedeiros, causando injúrias respiratórias, natatórias e no desenvolvimento do hospedeiro. Além de causarem danos diretos aos peixes, também podem servir como vetores de doenças ocasionadas por vírus ou como hospedeiros definitivos de hemoparasitos dos peixes (PALA *et al.*, 2018; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008). Além dos danos de perda de epitélio, hemorragia, espoliação, elevada secreção de muco e necrose dos tecidos (COSTELLO, 2006).

Nas brânquias, além do aporte sanguíneo e de oxigênio, este local acumula muco e detritos, podendo ser considerada uma área de competitividade entre parasitos de espécies diferentes, explicando assim a prevalência da ocorrência de parasitos neste local. As nadadeiras também se apresentam como um bom local de fixação pelos parasitos, por possuir poucas escamas e pelo tecido ser mais delgado, além de ser uma área com bastante irrigação sanguínea (FONSÊCA, 2003).

Apesar dos crustáceos ectoparasitos se localizarem sobretudo nas brânquias e tegumento, sendo facilmente visíveis macroscopicamente, pois podem atingir dimensões apreciáveis, em alguns casos, podem localizar-se como que enterrados nos tecidos do hospedeiro em bolsas que comunicam com o exterior por um pequeno orifício. Outros se encontram inseridos profundamente no hospedeiro, localizando-se nas nadadeiras, musculatura lateral, musculatura da cabeça, olhos, câmara branquial, ficando o parasito com o tronco e abdômen para fora do hospedeiro, em contato com a água, como por exemplo os Penellidae (*Penella*, *Lernaeocera*, *Peniculus*) (EIRAS e CASTRO, 2017).

Em coletas realizadas por Azevedo (2019) em estabelecimentos que trabalham diretamente com o pescado, como peixarias, portos e indústrias de processamento, todos ectoparasitos de peixes marinhos eram crustáceos copépodes e isópodes. As amostras de parasitos coletadas, em sua grande maioria, foram retiradas das brânquias porém, também encontrados parasitos em diversas partes do corpo dos peixes, como boca, tegumento, nadadeiras e cabeça (AZEVEDO, 2019).

A presença de crustáceos parasitos pode provocar a rejeição de compra por parte do consumidor no caso de os parasitos serem de grande tamanho e provocarem lesões facilmente observáveis (AZEVEDO, 2019; CAVALINE, 2019; EIRAS e CASTRO, 2017). Em estudo realizado por Cavalline (2019) com pescadores e

peixeiros, notou-se que para eles o impacto visual destes parasitos é quase sempre imediato, pois o sítio de fixação é, geralmente, de fácil observação no pescado comercializado, sendo relatados com maior frequência nas brânquias e tegumento (CAVALINE, 2019).

Tipos de crustáceos parasitos

Apesar de, aparentemente, haver ainda um acervo de espécimes a se relatar, cerca de 400 espécies conhecidas já foram listadas, pertencentes a 26 famílias, distribuídas em um abundante número de hospedeiros. O quadro 1 apresenta os grupos e as principais famílias de crustáceos parasitos de ocorrência no Brasil (EIRAS; VELLOSO; PEREIRA JR, 2017).

Quadro 1 - Crustáceos parasitos de ocorrência no Brasil.

Classificação	Famílias
Copepoda <i>Classe Maxillopoda</i> <i>Subclasse Copepoda</i>	Família Bomolochidae
	Família Chondracanthidae
	Família Ergasilidae
	Família Lernaeidae
	Família Penellidae
	Família Philichthyidae
	Família Shiinoidae
	Família Taeniacanthidae
Branchiura <i>Classe Maxillopoda</i> <i>Subclasse Branchiura</i>	Família Argulidae
Isopoda <i>Classe Malacostraca</i> <i>Subclasse Eumalacostraca</i> <i>Ordem Isopoda</i>	Família Aegidae
	Família Cymothoidae
	Família Gnathiidae

Fonte: Eiras, Velloso e Pereira Jr. (2017).

Copépodes

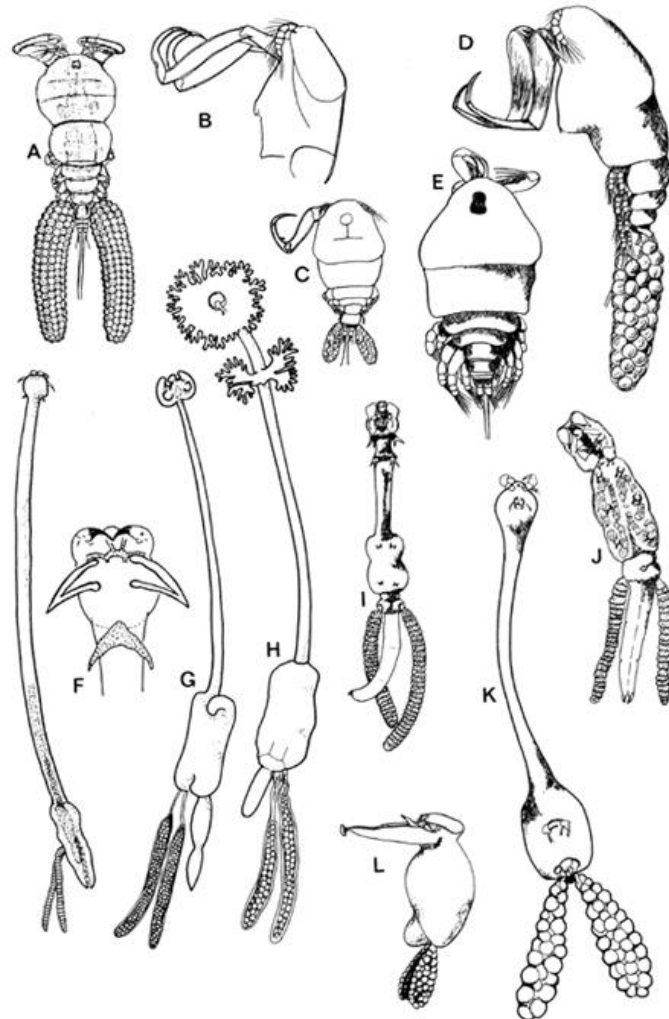
Os copépodes constituem um grupo extremamente abundante, diverso e ecologicamente significativo. Este único táxon evoluiu para um grupo diverso com múltiplas instâncias convergentes da evolução de associações parasitárias, uma transição de estilos de vida em diferentes habitats (BRON *et al.*, 2011).

Os copépodes são os mais importantes crustáceos parasitos. De acordo com Boxshall (2005), representam quase metade das espécies conhecidas de crustáceos parasitos, sendo que a maioria tem os peixes marinhos como hospedeiros. A diversidade morfológica dos parasitos de peixes é enorme (Figura 1) e está especialmente relacionada com as diferentes estratégias de adaptação que foram evolutivamente adotadas para fixação eficaz ao hospedeiro, compreendendo desde

pequenas modificações em relação às espécies de vida livre, como acontece com *Ergasilus* sp., até estruturas extremamente diferentes e complexas, especializadas no mecanismo de fixação (EIRAS e CASTRO, 2017).

Desde o século XIX já eram conhecidos espécimes de copépodes que parasitam e causam danos aos peixes. Esses copépodes são organismos de menor tamanho e que passam por vezes despercebidos devido ao seu pequeno porte (SÃO PAULO, 1945). Mesmo que de imediato não sejam vistos na parte externa do peixe, estes podem estar encerrados em pequenas bolsas que ficam por debaixo do tegumento, estes possuem contato com a parte externa através de pequenos poros, sendo todos deste grupo ectoparasitos (EIRAS; TAKEMOTO; PAVANELLI, 2006).

Figura 1 - Diversidade morfológica dos copépodes parasitos de peixes.



Fonte: Paperna (1996).

Em piscicultura marinha, destacam-se os copépodes *Lepeophtheirus salmonis* e *Caligus* sp. que podem acarretar a morte dos peixes, mesmo que raramente, podendo ocorrer mortalidade em populações naturais. São parasitos que possuem

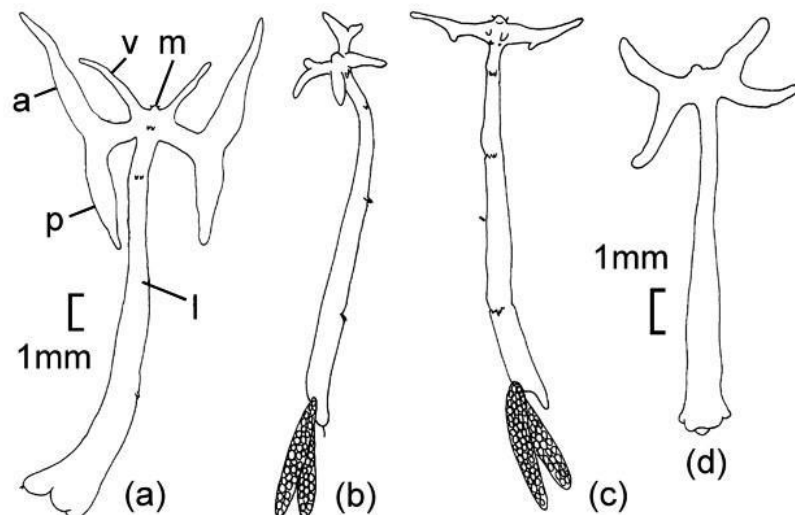
uma ampla distribuição geográfica e abundantes hospedeiros, parasitando apenas peixes marinhos (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008). Os Gêneros *Lernaea* e *Lamproglana* são descritos com frequência em peixes (LUQUE e TAVARES, 2007). Sua fixação nas brânquias e tegumento do hospedeiro geram lesões dos vasos e dano epitelial grave (INNAL *et al.*, 2017).

Lernaeídeos

Conhecidos vulgarmente como “vermes ancora” (Figura 2), estas espécies foram introduzidas no Brasil com a importação de carpas húngaras, disseminando-se no ambiente aquático brasileiro a partir das criações (LUQUE, 2004).

O parasitismo por *Lernaea* sp. reduz a área branquial de troca gasosa, diminuindo a eficiência respiratória e causando inflamações na epiderme, que influenciam negativamente no desenvolvimento do hospedeiro, através da redução da oferta de oxigênio e do redirecionamento energético para funções vitais de defesa, como no caso dos processos inflamatórios (CARRIEL, 2014).

Figura 2 - Estrutura dos Lernaeídeo: (a) e (b) *L. cyprinacea*; (c) *L. polymorpha*; (d); *L. cruciata*. (a) processo anterior do corno dorsal, (i) três pares de patas, (m) boca, (p) processo posterior do corno dorsal, e (v) corno ventral.

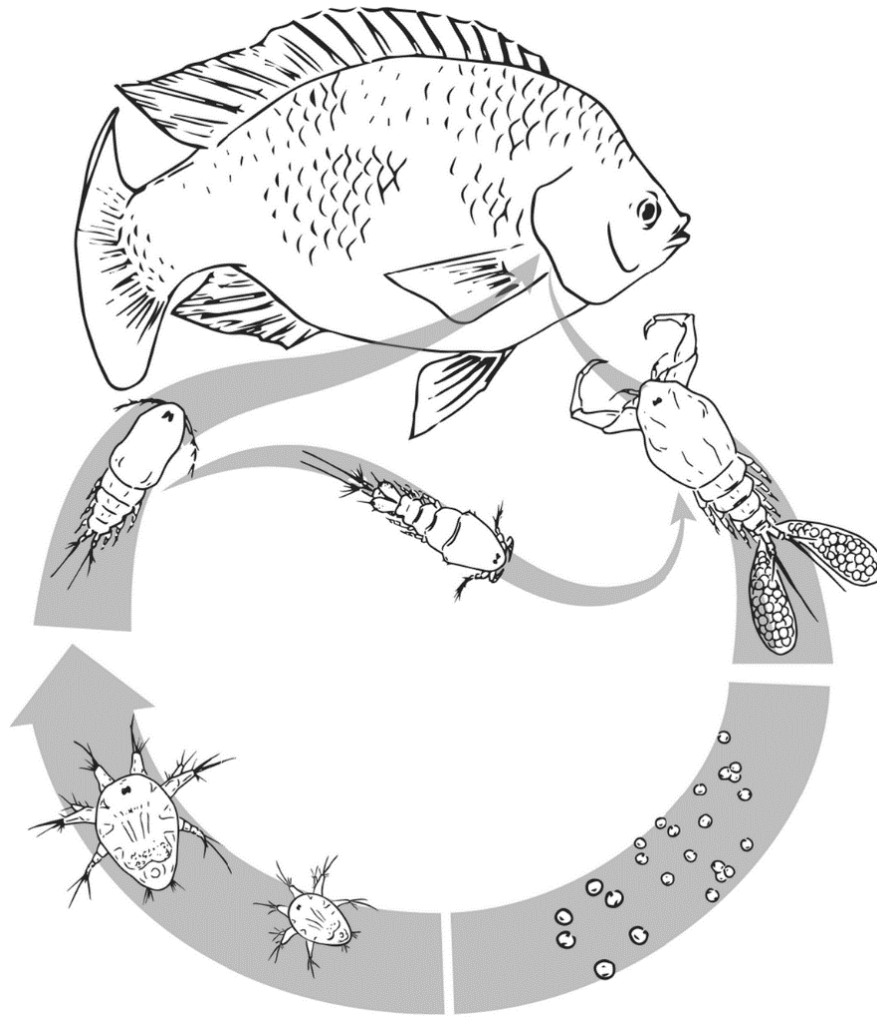


Fonte: Moreira (2001).

Ergasilídeos

São copépodes diminutos, caracterizados pela grande modificação do par de antenas em garras através das quais se aderem aos filamentos branquiais e narinas dos hospedeiros (marinhos e dulcícolas) (LUQUE, 2004) (Figura 3).

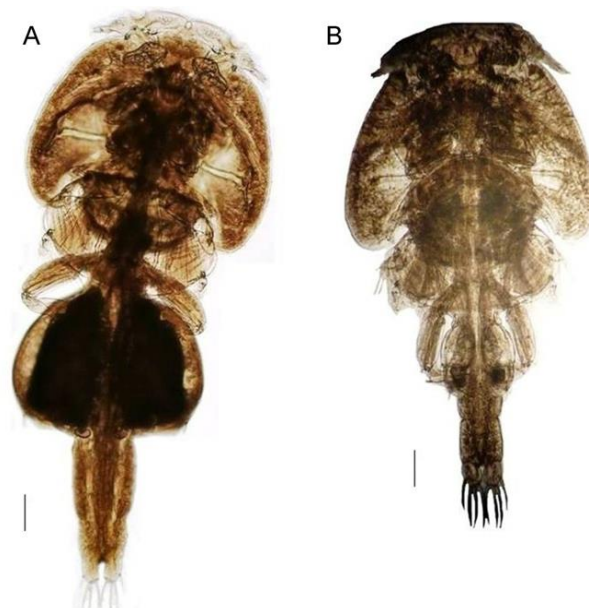
Figura 3 - Ciclo de vida generalista de uma espécie de *Ergasilus*, mostrando os estágios naupliar, copepodídeo de vida livre, bem como a fêmea adulta parasitária.



Fonte: Smit e Hadfield (2018).

Caligídeos

Essa família de copépodes tem dois importantes Gêneros *Caligus* e *Lepeophtheirus* (Figura 4) conhecidos como piolho-do-mar (BYRNE, 2016). Possuem formato achatado e ventralmente apresenta apêndices orais modificados em forma de garra. Suas patas conservam um formato apropriado para locomoção na superfície do hospedeiro (LUQUE, 2004).

Figura 4 – Espécimes de *Caligus rotundigenitalis*. (A) fêmea e (B) macho.

Fonte: Leaw *et al.* (2012).

Branquiúros

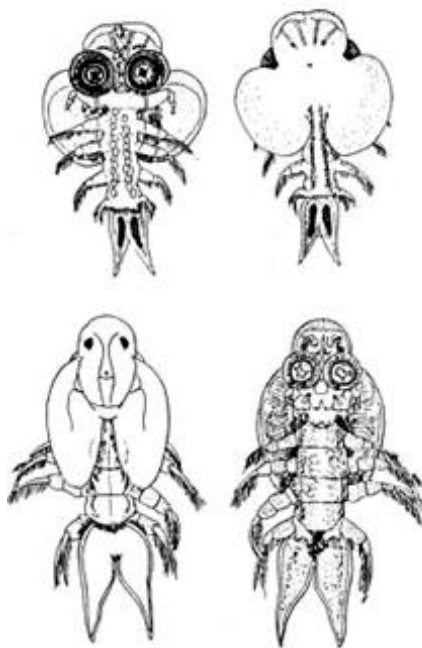
Os branquiúros são um pequeno grupo de ectoparasitos achatados dorso-ventralmente e providos de uma carapaça dorsal (Figura 5), que pode ocorrer também em peixes marinhos, sendo o número de espécies marinhas bem mais reduzido do que o de água doce. Deslocam-se ativamente à superfície do hospedeiro e podem nadar facilmente, tendo assim capacidade de mudar de hospedeiro. Há poucos estudos relacionados à patologia desses parasitos nos hospedeiros marinhos (EIRAS e CASTRO, 2017)

Este é um pequeno grupo de aproximadamente 158 espécies (WORMS, 2018), com quatro gêneros que parasitam peixes de água doce (POLY, 2008) e peixes marinhos costeiros (MØLLER, 2009), podendo parasitar, além de peixes ósseos, também peixes cartilagosos como arraias (BENZ e BULLARD, 2004).

Crustáceos da Subclasse *Branchiura*, como os dos Gêneros *Argulus* sp. e *Dolops* sp. podem ser encontrados parasitando a superfície corporal, nadadeiras e brânquias de várias espécies de peixes silvestres e cultivados, sendo popularmente conhecidos como “piolhos-de-peixe” ou “carrapato-de-peixe”. Existem cerca de 200 espécies de branquiúros, das quais 120 pertencem ao Gênero *Argulus*, medindo cerca de cinco a 22 mm (EIRAS, 1994). A maior parte das espécies pertencem ao Gênero *Argulus* (providos de ventosas) e do Gênero *Dolops* (providos de ganchos), conhecidos como “piolhos de peixe” (LUQUE, 2004). Segundo Schalch (2006), esses

parasitos estão disseminados por todo estado de São Paulo, principalmente em pesque-pagues que recebem diversas espécies de peixes de diferentes regiões, sem tomar os devidos cuidados sanitários. Ressalta-se que a adoção de medidas profiláticas são fundamentais para evitar a introdução destes parasitos nos sistemas de criação (SCHALCH, 2006).

Figura 5 - Diversidade morfológica de Branquiúros, vista dorsal e ventral.



Fonte: Paperna (1996).

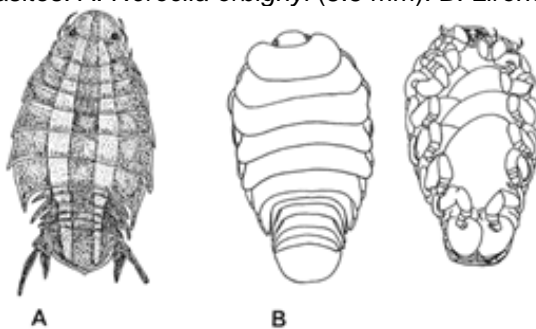
Isópodes

Os isópodes são o segundo grupo de crustáceos com mais espécies parasitos de peixes. Nesse caso, as modificações morfológicas relacionadas com o parasitismo são muito menos pronunciadas e a morfologia das espécies permite uma fácil identificação do grupo a que pertencem. A maioria tem atividade parasítica durante toda a vida, enquanto os que pertencem à Família Gnathiidae são apenas durante determinada fase do desenvolvimento larval, tendo um comportamento hematófago (EIRAS e CASTRO, 2017).

Os isópodes são crustáceos parasitos normalmente de grande porte, com corpo segmentado e achatado dorsoventralmente, cujas patas estão modificadas em poderosas garras adaptadas para fixação no hospedeiro (Figura 6). Normalmente aderem-se à superfície do corpo, na cavidade branquial, boca, e reto dos peixes (LUQUE, 2004). Os isópodes associados a peixes são parasitos relativamente

grandes em comparação com a maioria dos outros crustáceos parasitos, e são frequentemente vistos por mergulhadores na superfície corporal de peixes de recifes marinhos e por pescadores na boca e câmaras branquiais (WILLIAMS e BUNKLEY-WILLIAMS, 2019).

Figura 6 - Isópodes parasitos. A. *Nerocila orbigny* (8.5 mm). B. *Livoneca tanganyikae* (12mm).



Fonte: Paperna (1996).

Davies e Smit (2001) mostraram que os isópodes podem estar envolvidos na transmissão dos parasitos sanguíneos. A maior parte dos isópodes parasitos encontra-se em hospedeiros marinhos, ocorrendo frequentemente na boca e na câmara branquial. Nesse caso, podem causar eventualmente dificuldades respiratórias devido à pressão ou destruição que originam nas lamelas branquiais, em função do volume que ocupam (EIRAS e CASTRO, 2017).

Os isópodes mais ocorrentes são os pertencentes à Família Cymothoidae, conhecido popularmente como barata ou piolho-de-peixe, que se aderem fortemente nas brânquias ou na boca dos peixes. Pertencem a esta família os Gêneros *Aegathea*, *Nerocila*, *Anilocra*, *Cymothoa* e *Livoneca* (SÃO PAULO, 1945).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ectoparasitos encontrados nos peixes não são citados como sendo passíveis de causar zoonoses, porém, podem provocar perdas econômicas relacionadas à produção e qualidade do pescado. O conhecimento das espécies de pescado com maior probabilidade de serem parasitadas, assim como o tipo de ectoparasito encontrado, os estágios mais comuns, o sítio de parasitismo são fundamentais para um controle efetivo destes organismos indesejáveis.

Para os profissionais que trabalham na cadeia produtiva do pescado é importante conhecer os ectoparasitos de peixes, para poder identificá-los

corretamente, bem como estabelecer as medidas de manejo que se fizerem necessárias quando da ocorrência destes agentes parasitários.

AGRADECIMENTOS

Aos cursos de graduação em Engenharia de Pesca e Pós-graduação em Controle de Qualidade e Segurança de Alimentos do Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes Campus Piúma.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, Paula Zambe. **Levantamento preliminar dos parasitos de ocorrência em pescado no litoral sul do Espírito Santo**. 2019. 74 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Pesca) - Instituto Federal do Espírito Santo, Piúma, 2019.

BENZ, George W.; BULLARD, Stephen A. Metazoan parasites and associates of chondrichthyans with emphasis on taxa harmful to captive hosts. *In*: SMITH, Mark; WARMOLTS, Doug; HUETER, Dennis Thoney, Robert (ed.). **The elasmobranch husbandry manual: captive care of sharks, rays, and their relatives**. Columbus: Ohio Biological Survey, 2004. p. 325-416.

BOXSHALL, Geoff. A.; BRAVO, Sandra. On the identity of the common *Caligus* (Copepoda, Siphonostomatoida, Caligidae) from salmonid netpen systems in southern Chile. **Contributions to Zoology**, v. 69, p. 137-140, 2000.

BOXSHALL, Geoff. Copepoda (copepods). *In*: RHODE, K. (ed.). **Marine Parasitology**. Wallingford: CABI Publishing, 2005. p. 145-147.

BRON, James E.; FRISCH, Dagmar; GOETZE, Erica; JOHNSON, Stewart C.; LEE, Carol Eunmi; WYNGAARD, Grace A. Observing copepods through a genomic lens. **Frontiers in Zoology**, v. 8, n. 22, p. 1-15, 2011.

BYRNE, Allison. **Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) and Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Integrated Multi-Trophic Aquaculture in British Columbia: Investigation of Bivalve Growth and Natural Sea Lice Mitigation**. 2016. 150 f. Dissertação (Mestrado em Geografia). Department of Geography, University of Victoria, Victoria, 2016.

CARRIEL, Katiele Cardozo. **Levantamento da presença de *Lernaea* spp. (Lernaeoidea: Lernaeidae) em pisciculturas da associação de produtores de peixes de Laranjeiras do Sul-PR (PEIXELAR)**. 2014. 56f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Aquicultura) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2014.

CAVALINE, Rosali Barboza. **Percepção sobre a ocorrência de parasitos em peixes marinhos em Piúma – ES**. 2019. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso

(Graduação em Engenharia de Pesca) - Instituto Federal do Espírito Santo, Piúma, 2019.

COSTELLO, Mark J. Ecology of sea lice parasitic on farmed and wild fish. **Trends in parasitology**, v. 22, n. 10, p. 475-483, 2006.

DAVIES, Angela J.; SMIT, Nico J. The life cycle of *Haemogregarina bigemina* (Adeleina: Haemogregarinidae) in South African hosts. **Folia Parasitologica**, v. 48, p. 169-177, 2001.

EIRAS, Jorge C. **Elementos de ictioparasitologia**. Porto: Fundação Eng. Antônio de Almeida, 1994.

EIRAS, Jorge C.; CASTRO, R. Capítulo XI – Crustacea. *In*: EIRAS, Jorge C.; VELLOSO, Ana Luiza; PEREIRA JR, Joaber (ed.). **Parasitas de peixes marinhos da América do Sul**. Rio Grande: Editora da FURG, 2017. p. 287-359.

EIRAS, Jorge C.; TAKEMOTO, Ricardo M.; PAVANELLI, Gilberto C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. 2. ed. rev. ampl. Maringá: Eduem, 2006.

EIRAS, Jorge C.; VELLOSO, Ana Luiza; PEREIRA JR, Joaber. **Parasitas de peixes marinhos da América do Sul**. Rio Grande: Editora da FURG, 2017.

FONSÊCA, Francinete Torres Barreiro da. **Copépodos parasitas de peixes Mugilidae, Centropomidae, Gerreidae do canal de Santa Cruz e área de Suape (Pernambuco-Brasil)**. 2003. 141 f. Tese (Doutorado em Oceanografia) - Curso de Programa de Pós-graduação em Oceanografia, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

INNAL, Deniz.; AVENANT-OLDEWAGE, Annemarie; DOGANGIL, B.; STAVRESCU-BEDIVAN, M. Mala; OZMEN, Ozlem.; MAVRUK, Sinan. Susceptibility of endemic and non-indigenous fish to *Lernaea cyprinacea* (Copepoda: Lernaeidae): a case study from Düger Spring Creek (Burdur-Turkey). **Bull Eur Assoc Fish Pathol.**, v. 37, n. 3, p. 100-109, 2017.

JOHNSON, Stewart C.; TREASURER, Jim W.; BRAVO, Sandra.; NAGASAWA, Kazuya; KABATA, Zbigniew. A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. **Zoological Studies**, v. 43, p. 229-243, 2004.

LEAW, Yoon Yau; SHAHAROM Faizah; CHATTERJI, Anil; BENG, Chu Kua. Prevalence mean intensity and site preference of *Caligus rotundigenitalis* Yü, 1933 (Copepoda: Caligidae) on cage cultured crimson snapper (*Lutjanus erythropterus* Bloch, 1790) from Bukit Tambun, Penang, Malaysia. **Veterinary parasitology**, v. 187, p. 505-510, 2012.

LUQUE, José Luis. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 161-165, 2004.

LUQUE, José Luis; TAVARES, Luiz E. R. Checklist of Copepoda associated with fishes from Brazil. **Zootaxa**, v. 1579, n. 1, p. 1-39, 2007.

MOREIRA, Heden Luiz Marques *et al.* **Fundamentos da Moderna Aquicultura**. Canoas: Editora ULBRA, 2001.

MØLLER, Ole Sten. Branchiura (Crustacea). Survey of historical literature and taxonomy. **Arthropod Syst Phylo**, v. 67, n. 1, p.41–55, 2009.

PALA, Gabriela; FARIAS, Thaís Heloísa Vaz; ALVES, Lindomar de Oliveira; PILARSKI, Fabiana; HOPPE Estevam Guilherme Lux. Association of *Epistylis* spp. (Ciliophora: Peritrichia) with parasitic crustaceans in farmed piava *Megaleporinus obtusidens* (Characiformes: Anostomidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 3, p. 348-353, 2018.

PAPERNA, Ilan. **Parasites, infections and diseases of fishes in Africa - An update**. CIFA Technical Paper. Rome: FAO, 1996.

PAVANELLI, Gilberto Cezar; EIRAS, Jorge Costa; TAKEMOTO, Ricardo Massato. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3. ed. Maringá: Eduem, 2008.

POLY, William. J. Global diversity of fishlice (Crustacea: Branchiura: Argulidae) in freshwater. **Hydrobiologia** v. 595, p. 209-212, 2008.

RODRIGUES, Ana Paula Oeda; LIMA, Adriana Ferreira; ALVES, Anderson Luis; ROSA, Daniele Kloppel; TORATI, Lucas Simon; SANTOS, Viviane Rodrigues V. dos (ed.). **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Brasília: Embrapa, 2013.

SCHALCH, Sérgio Henrique Canello. Parasito conhecido como “carrapato” de peixe causa sérios danos à criação de peixes. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 3, n.1, 2006.

SÃO PAULO. **Anuário da pesca marítima no Estado de São Paulo: 1944**. São Paulo: Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio, Departamento da Produção Animal, 1945.

SMIT, Nico; HADFIELD, Kerry. A systematic survey of parasites of freshwater fish in Africa – Crustacea. *In*: SCHOLZ, Tomás; VANHOVE, Maarten. P. M.; SMIT, Nico; JAYASUNDERA, Zuzana; GELNAR, Milian. (ed.) **A guide to the parasites of African freshwater fishes**, vol 18. Brussels: ABC Taxa, p. 333-355, 2018.

WILLIAMS, Ernest H. Jr; BUNKLEY-WILLIAMS, Lucy. Life Cycle and Life History Strategies of Parasitic Crustacea. **Parasitic Crustacea**, v. 3, p. 179–266, 2019.

WORMS. **World register of marine species**. Editorial Board, 2018. Disponível em: <http://www.marinespecies.org>. Acesso em: 10 jan. 2018.

ZHANG, ZHI-QIANG. Phylum Arthropoda. **Zootaxa**, v. 3703, p. 1-82, 2013.

INCIDÊNCIA DE *Salmonella sp.* E *Staphylococcus aureus* EM FILÉS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) E CATFISH (*Ictalurus punctatus*) ABATIDOS E PROCESSADOS EM AMBIENTES COM DIFERENTES CONTROLES DE QUALIDADE SANITÁRIA

Layon Carvalho de Assis¹; Paola de Oliveira Santos²; Samuel Oliveira da Silva³; Thayná de Souza Pardo⁴; João Victor Nascimento Tardim⁵; Marcus Vinicius Martins Gonzaga⁶; Pedro Pierro Mendonça⁷.

RESUMO

O incentivo ao consumo do pescado, devido sua importância nutricional, impulsiona a produção aquícola, que segue seu crescimento conforme as previsões da FAO. Para atender a demanda crescente por produtos do beneficiamento do pescado, diversos locais para abate e processamento são utilizados e, nem todos, atendem os requisitos sanitários mínimos necessários. Ambientes e procedimentos inadequados para o processamento do pescado pode expor o produto a diversos patógenos. Com isso, o objetivo deste trabalho foi simular ambientes próprios e impróprios para o beneficiamento do pescado e avaliar a contaminação de *Salmonella sp.* e *Staphylococcus aureus* no filé de Tilápia e Catfish. O trabalho foi realizado no setor de aquicultura do Ifes - campus de Alegre. Foram abatidos e beneficiados 80 animais (20 de cada espécie para cada tratamento), e a análise laboratorial foi realizado de acordo com da Silva (2007). Foi observado a presença de *Salmonella sp.* no produto processado no ambiente impróprio, não foi observado presença de *Staphylococcus aureus* em nenhum dos dois ambientes avaliados. Constatou-se que o ambiente onde é processado o pescado, influencia na contaminação microbiológica do produto.

Palavras-chave: Sanidade. Beneficiamento. Processamento.

ABSTRACT

The incentive to fish consumption, due to its nutritional importance, drives aquaculture production, which follows its growth according to FAO forecasts. In order to meet the growing demand for processed fish products, many of the places wick are used for fish slaughter and processing are not comply with the minimum necessary sanitary requirements. Inappropriate environments and procedures for processing fish can expose the product to various pathogens. Thus, the objective of this research was to

¹ Graduando em Engenharia de aquicultura pelo Instituto Federal do Espírito Santo. Link do Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3957061263756363>. layoncdeassis@gmail.com

² Graduanda em Engenharia de aquicultura pelo Instituto Federal do Espírito Santo. Link do Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3352096322602573>. paolamanfredini111@gmail.com.

³ Graduando em Engenharia de aquicultura pelo Instituto Federal do Espírito Santo. Link do Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2925485868309443>. engaquisamuel@gmail.com.

⁴ Graduanda em Engenharia de aquicultura pelo Instituto Federal do Espírito Santo. Link do Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9659777525837376>. eng.thaynapardo@gmail.com.

⁵ Graduando em Engenharia de aquicultura pelo Instituto Federal do Espírito Santo. Link do Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3957061263756363>. jvntardim@gmail.com

⁶ Mestre em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Espírito Santo. Link do Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0600142582893442>. marcusvmg@hotmail.com

⁷ Doutor em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense. Professor do Instituto Federal do Espírito Santo. <http://lattes.cnpq.br/3992381145892105>. ppierrrom@ifes.edu.br.

simulate proper and inappropriate environments for the processing of fish and to evaluate the contamination of *Salmonella sp.* and *Staphylococcus aureus* in Tilapia and Catfish fillet. The research was carried out in the aquaculture department of the Ifes - Alegre campus. It was used 80 animals, which were slaughtered and processed (20 of each species for each treatment), and the laboratory analysis was carried out according to da Silva (2007). It was found *Salmonella sp.* in the product processed in the inappropriate environment, *Staphylococcus aureus* was not observed in any of the two environments evaluated. It was found that the environment where the fish is processed, influences the microbiological contamination of the product.

Keywords: Healthy, Wholesome, Processing

INTRODUÇÃO

Segundo o relatório FAO (2018) o consumo pescado na América Latina aumentará 33% até 2030. É previsto também um crescimento substancial em demais regiões como África (+37%), Oceania (+28%) e Ásia (+20%). O relatório mais recente confirma as previsões mencionadas, com recordes de produção e consumo de pescado em 2018 (FAO, 2020). O crescimento na produção e consumo, portanto, reforça a importância do controle sanitário no processamento do pescado (GAZAL, 2018).

Do ponto de vista nutricional, a proteína proveniente do pescado é uma das mais saudáveis e importantes na alimentação humana, devido sua alta digestibilidade, valor biológico e teor de ácidos graxos poli-insaturados (SOCCOL e OETTERER, 2003; FRANCO e LANDGRAF, 2003), além de ser ótima fonte de vitaminas A e D, Cálcio e Fósforo (EMBRAPA, 2016).

Apesar de sua importância nutricional, o filé de pescado é extremamente perecível (SOARES e GONÇALVES, 2012). Este deve ser manipulado com cautela, pois, assim como outras proteínas de origem animal, podem sofrer alterações por oxidação, deterioração e/ ou autólise, por atividade microbiana e enzimática devido à suas condições teciduais e maior teor de água (OGAWA, 1999; AGNESE et al., 2001 e MINOZZO, 2016).

Vários autores alertam para o problema de contaminação humana aos produtos de pescado. Essa contaminação advém dos próprios seres humanos que manipulam tais produtos e o ambiente no qual o peixe é abatido, processado e armazenado, sem qualquer preocupação com a higiene pessoal e limpeza do local de manipulação (GERMANO, GERMANO E OLIVEIRA, 1998; MINOZZO, 2016).

Visando aumentar a validade comercial do pescado, é preciso empregar técnicas de conservação que reduzam as alterações microbianas (CONTE JÚNIOR e RODRIGUES, 2013), portanto, é preciso atenção e cuidado em todo o processo de manipulação do pescado, aos funcionários que estão trabalhando, ao ambiente de abate, todo o local de estocagem do produto final para que garanta o máximo de segurança para o alimento chegar ao consumidor sem riscos para sua saúde.

O consumidor, cada vez mais preocupado com a qualidade dos produtos que compra, exige, dentre outras coisas, um peixe que seja livre de patógenos para ele e sua família, esperando poder contar com produtos processados dentro dos padrões da vigilância sanitária (SOUZA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008).

Os procedimentos realizados no pescado durante o armazenamento, processamento e manipulação, define diretamente sua qualidade. São necessárias condições sanitárias adequadas para o manuseio, incluindo a higienização dos profissionais que irão manusear o produto e do ambiente utilizado para manipular, assim como dos utensílios e a utilização de água limpa e devidamente clorada são imprescindíveis para que o produto seja mais seguro (BARTOLOMEU et al., 2011).

Segundo Silva (2011), são vários tipos de microrganismos patogênicos presentes em produtos contaminados. Sendo a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp.* importantes para questões relacionadas a saúde pública. As duas primeiras, presentes normalmente em seres humanos (pele, mucosas ou vias aéreas) e a última em trato intestinal e revela contaminação fecal pelo homem ou animais, mesmo após refrigeração ou congelamento. Destas, destaca-se a Salmonelose, como uma das mais recorrentes zoonoses na saúde pública do mundo, por isso a importância de medidas profiláticas para evitar a contaminação humana (SHINOHARA et al., 2008).

As *Salmonella spp.* são membros da família *Enterobacteriaceae* do gênero *Salmonella* de bastonetes Gram-negativos, anaeróbicos facultativos, móveis e não formadores de esporos (SANTIAGO et al., 2013). A temperatura para o seu crescimento está entre 7 °C a 46 °C, com o ideal entre 35 °C a 43 °C, e os limites de pH ficam entre 3,8 a 9,5, tendo como pH ideal na amplitude de 7,0 a 7,5 (JARVIS et al., 2016). A *Salmonella sp.*, apesar de não fazer parte da microbiota natural dos peixes, estes podem se tornar hospedeiros assintomáticos (FERNANDES et al., 2018).

A *Salmonella sp.*, quando encontrada no pescado, a contaminação pode ter ocorrido no local de onde foram retirados, em viveiros isso ocorre quando se faz adubação com cama de aviário, ou proveniente do próprio manejo de despesca (DUARTE et al., 2010).

A *Salmonella paratyphi* é responsável pela febre energética, tendo os sintomas mais amenos do que a febre tifóide, com um quadro clínico de gastroenterite, vômito e febre, e é disseminada no consumo de ovos, mariscos, leite e vegetais crus. Já demais infecções entéricas causadas por outras salmoneloses, apresentam uma sintomatologia de infecção gastrointestinal, com vômitos, febre baixa, diarreia e dores abdominais. Os sintomas podem durar até 72 horas e aparecem de 12 a 36 horas depois da ingestão do alimento contaminado (SHINOHARA et al., 2008)

A *Salmonella thyphi* é responsável pela febre tifóide, uma doença que acomete os seres humanos, não possuindo dados sobre ocorrência em animais, disseminada de forma interpessoal ou água e alimentos contaminados com partículas fecais humanas. Se tornou uma doença muito grave devido aos seus sintomas, que são febre alta, vômitos, diarreias e septicemia, podendo evoluir a morte (SHINOHARA et al., 2008)

O *Staphylococcus aureus* tem sua patogenicidade não devido a bactéria em si, mas sim a suas toxinas, conhecidas como enterotoxinas estafilocócicas, que apresentam propriedades termoestáveis (resistente a temperaturas), podem ser encontradas nos alimentos mesmo depois de submetidos ao cozimento, causam níveis diferentes (de leve à grave) de intoxicação alimentar. A bactéria em si, por outro lado, é extremamente sensível a temperaturas elevadas, e pode ser encontrada naturalmente na mucosa, pele, intestino e trato respiratório superior do ser humano (VIANA et al., 2016). Os sintomas podem aparecer de 2 a 6 horas após a ingestão do alimento contaminado e o tempo para o desaparecimento do mesmo varia de acordo com a quantidade de toxina ingerida e do estado imunológico e fisiológico do indivíduo. A infecção por *S. aureus* é caracterizada por dor abdominal, vômito e diarreia (SANTIAGO et al., 2013).

Segundo Vieira (2003), mesmo que a temperatura seja limitante para muitas bactérias, algumas ainda resistem, entrando em estado latente que, embora não reproduzam nesse estado, podem se tornar viáveis, quando houver oportunidade, levando a produção de toxinas que serão liberadas na carne animal. O Ministério da Agricultura (2018) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2001) estipulam

valores mínimos para *Staphylococcus aureus* e zero para Salmonella, como exigência para a comercialização de produtos provenientes do pescado, com qualidade e segurança.

Para aumentar o conhecimento sobre os aspectos sanitários e microbiológicos, objetivou-se avaliar a contaminação microbiana do filé de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) e Catfish (*Ictalurus punctatus*), oriundos de abate, evisceração e filetagem realizados em ambientes distintos: um impróprio e outro próprio para o abate.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no setor de aquicultura do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), Campus de Alegre, no Laboratório de Nutrição e Produção de Espécies Ornamentais (LNPEO). A despesca de 40 peixes foi realizada, sendo 20 espécimes de *Ictalurus punctatus* (Catfish) e 20 espécimes de *Oreochromis niloticus* (Tilápia do Nilo), para cada tratamento (totalizando 80 peixes para todo o experimento), originados da produção de peixes da própria instituição, e para essa coleta foi utilizada uma rede de arrasto com o comprimento de 15 metros.

Após a despesca os peixes foram abatidos através de choque térmico, utilizando gelo e água na proporção de 1:1 (10 Kg de gelo para 10 L de água), em caixas plásticas de 70 L com tampa. Depois de abatidos, os peixes foram eviscerados e filetados, sempre por uma única pessoa. O filé obtido foi identificado e armazenado em freezer horizontal para posterior análise microbiológica.

Os tratamentos foram divididos em 2: Ambiente inadequado para o abate e ambiente adequado para o abate. Para simular o ambiente inadequado, foi realizado o seguinte: Primeiramente foi estipulado que o abate e filetagem fossem executados sem quaisquer cuidados de higiene durante os procedimentos (Tratamento 1). Não houve antissepsia prévia do local de abate, havia movimentação intensa de pessoas sem o Equipamento de Proteção Individual (EPI) adequado dentro do local (sem máscaras, toucas, vestimenta especial e calçado). E o abate, evisceração e filetagem das duas espécies foram feitos no mesmo local, não foram realizados procedimentos de higienização para o uso do local no processamento das diferentes espécies. O abatedouro não possuía métodos de controle para circulação do ar. O local não possuía métodos restritivos referente a circulação de possíveis vetores de doenças.

Figura 1 – Ambiente de abate do tratamento um: Preparo para o abate e filetagem dos peixes em condições impróprias com relação as normas de higiene pré-estabelecidas.



Fonte: o autor.

Para simular o ambiente adequado, foi realizado o seguinte: para o abate, filetagem e estocagem, os atuantes do processamento dos animais foram paramentados de acordo com as metodologias antissépticas de cirurgia, segundo Fossum (1999) e conforme metodologia de Biato (2005) para processamento dos animais (tratamento 2). O ambiente de trabalho foi previamente preparado, com limpeza do chão do local, utilização de clorexidinedegermante, clorexidine alcoólico e álcool 70 % para desinfecção, bem como a bancada de evisceração e utensílios a serem utilizados (figura 2). Os membros foram equipados com jalecos, máscaras, foram instruídos a lavarem as mãos previamente, depois realizaram a limpeza com clorexidinedegermante. Após secagem das mãos, todos calçaram luvas descartáveis para manipulação dos animais e seus produtos.

FIGURA 2 - Ambiente de abate do tratamento dois: Preparo para o abate e filetagem dos peixes em condições próprias com relação as normas de higiene pré-estabelecidas. (A) Mesa e bancada de granito, paredes azulejadas, pias acopladas, janelas teladas e com vidro, dispenser de papeis-toalha; (B) Manipuladores paramentados com jalecos, luvas, gorros e máscaras; (C) Materiais utilizados para antissepsia do local de abate e manipulação dos peixes e seus produtos: Álcool 70%, detergente líquido e caixa de luvas descartáveis e (D) Garrafas de Clorexidine Alcoólico 0,5% e Clorexidine Degermante a 4 e 1%.



Fonte: o autor.

Em relação à análise microbiológica, a metodologia empregada foi a mesma estipulada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001), o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2018) e de Da Silva (2007), conforme quadro da ANVISA de Padrões microbiológicos sanitários aceitáveis para alimentos (Figura 3).

Figura 3: Padrões microbiológicos sanitários aceitáveis para alimentos. a) m: o limite que separa o lote aceitável do produto. b) M: o limite que separa o produto aceitável do inaceitável. Valores acima de M são inaceitáveis são inaceitáveis. C) n: número de unidades a serem colhidas aleatoriamente do mesmo lote. D) c: número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M (plano de três classes). Nos casos em que o padrão microbiológico seja expresso por “ausência”, c é igual a zero (ANVISA, 2001).

Pescado e Produtos de Pesca	Microorganismos	Tolerância para Amostra Indicativa	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
Pescado	<i>Estaf.coag.positiva/g</i>	10 ³	5	2	5x10 ²	10 ³
	<i>Salmonellasp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	-

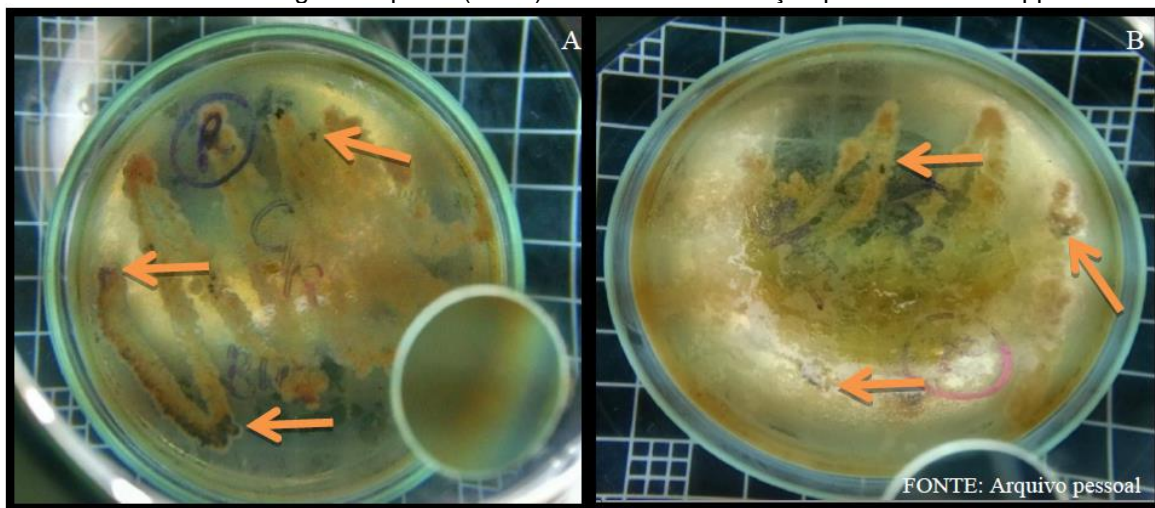
Fonte: ANVISA (2001).

O trabalho foi realizado com dois tratamentos e em cada ambiente de estudo foi realizado a análise para quantificar a presença de *Salmonella sp* e *Staphylococcus aureus*, sendo utilizado 20 repetições em placas de petri para cada espécie utilizada no estudo (*Ictalurus punctatus* e *Oreochromis niloticus*). Para análise estatística, foi feita análise descritiva dos dados obtidos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As análises microbiológicas do tratamento 1 indicaram a presença de *Salmonella spp.* nos meios SS (Ágar salmonella shigella) e no ágar XLD (Xilose Lisina Desoxicolato) em 100% das placas (figura 4), de ambas as espécies, o que segundo a ANVISA (2001), impediria de imediato a comercialização e consumo desse produto. Não foi verificada presença de *Staphylococcus aureus*.

Figura 4 - Placa inoculada com caldo preparado de amostra de Catfish (A) e Tilápia (B) no tratamento 1. Manchas negras na placa (setas) indicam contaminação por *Salmonella spp.*



Fonte: o autor.

Bartolomeu (2011), verificou que a manipulação humana de peixes promoveu contaminação de *Salmonella sp.*, provenientes da negligência humana relação à higiene. Embora a quantidade de *Staphylococcus aureus* estivesse em níveis aceitáveis, somente a presença da *Salmonella sp.* já condenaria o produto para consumo. Mello et al. (2012) verificaram em lotes de polpa e surimi de Tilápia a presença de *Escherichia coli*, estafilococo coagulase positiva e *Salmonella sp.*, o que bloqueou esses produtos para venda.

Peresi et al. (1998) observaram diversos sintomas relacionados a contaminação por salmonella em alimentos como: diarreia, vômito, febre e dor abdominal e também perceberam maior susceptibilidade de contaminação em idosos

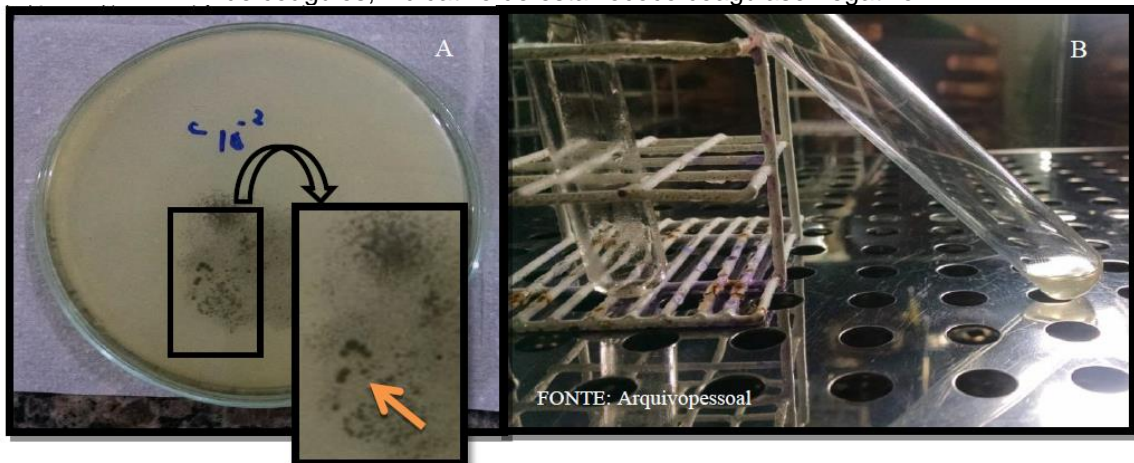
e crianças. Essa maior ocorrência nesses dois grupos é devido ao grau frágil de sua imunidade (BORGES, 2010; EDUARDO et al, 2008 e FREITAS, 2010).

Da mesma forma que a *S. sp*, a presença do *S. aureus* em alimentos deve ser analisada devido aos riscos de contaminação humana. Após 1 a 6 horas da ingestão de alimentos contaminados surgem sintomas como náusea, vômito, espasmos abdominais e diarreia, podendo, em casos mais graves, haver presença de muco e sangue no vômito e fezes, podendo também ser fatal em recém-nascidos e idosos (RADDI; LEITE e MENDONÇA, 1988).

Filho e Filho (2000) verificaram que a precária qualidade higiênico-sanitária na estocagem e manipulação dos produtos de origem artesanal constitui em motivo de preocupação, visto que, em mercados populares os vendedores possuem poucos cuidados com a higiene de seus produtos.

Foi verificada na análise microbiológica realizada no tratamento 2, que houve proliferação de *Staphylococcus aureus* na ordem de 9×10^2 apenas em uma placa (5 % das repetições), para o filé de Catfish, a qual foi coletada e levada para o teste de coagulase revelando reação negativa (figura 5), sendo, portanto, liberado.

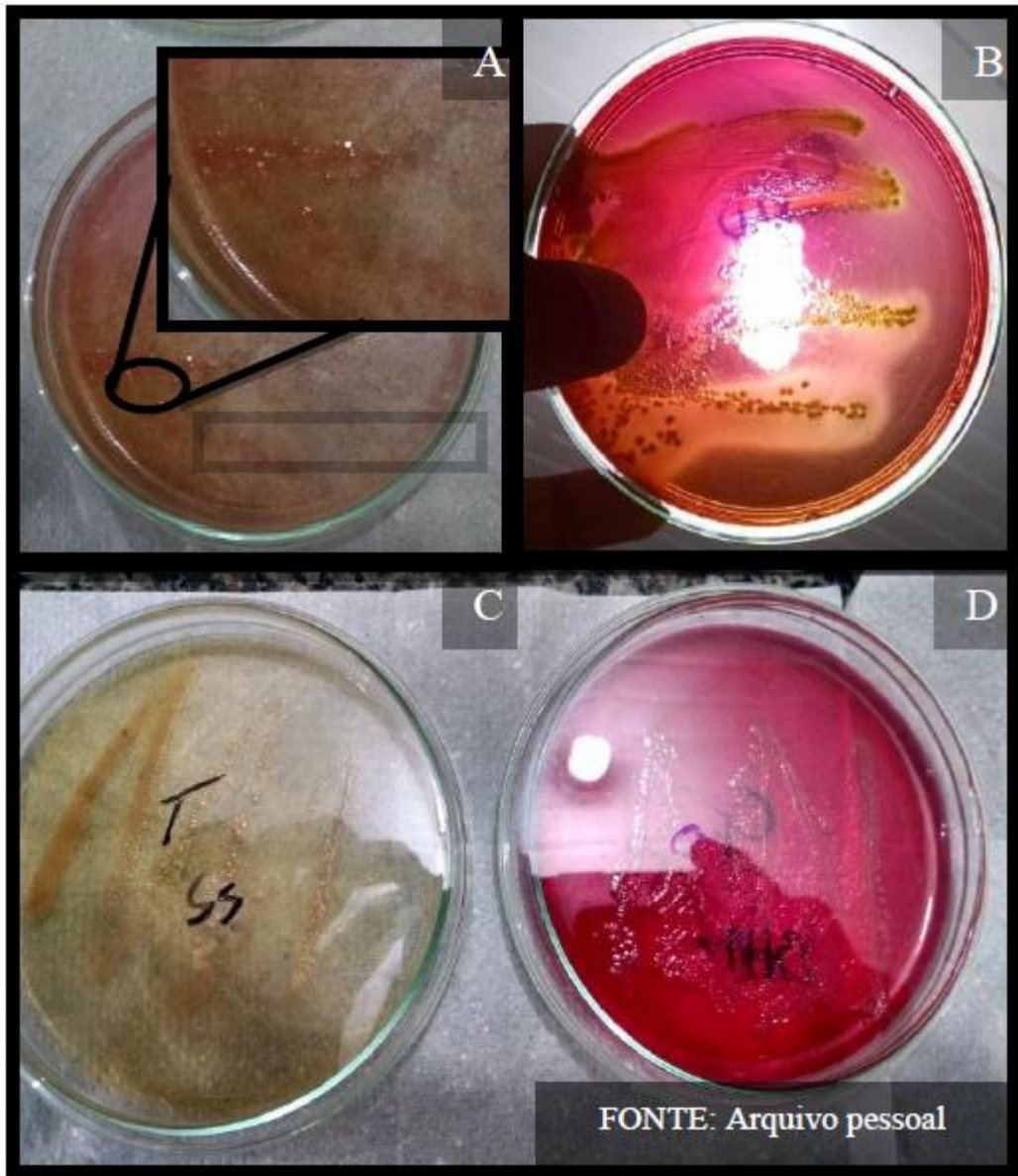
Figura 5 - (A) Placa inoculada com caldo preparado no tratamento 2 de amostra de Catfish. Manchas negras na placa (setas) indicam contaminação por *Staphylococcus*. (B) Tubo preparado para o teste de coagulase de *Staphylococcus*. Após o tempo estipulado de 24 horas foi verificada reação negativa de coágulos, indicativo de estafilococo coagulase negativo.



Fonte: o autor.

Quanto ao segundo teste não houve crescimento de *Salmonella sp*. Em uma das placas das amostras de catfish, na cultura onde se esperava crescimento de *Salmonella spp.* (Ágar SS), no entanto foi identificado um outro microrganismo. Este, por não ser *Salmonella sp.* ou *Shigella sp. a* (indicador de crescimento na placa utilizada), não foi analisado (figura 6), por não ser relevante, conforme os padrões estabelecidos pela ANVISA, que restringe presença apenas de *Salmonella sp*.

Figura 6 - Placa inoculada com caldo preparado no tratamento 2 de amostra Tilápia de Catfish. A e C: Ágar SS para Tilápia. B e D: Ágar XLD para Catfish.



Fonte: o autor.

Embora os protocolos de higiene tenham sido empregados no tratamento dois ainda houve a contaminação de uma bactéria, reforçando a importância dos cuidados em procedimentos com risco de contaminação microbiológica. Fossum (1999), recomenda que os integrantes do procedimento sigam alguns protocolos, como por exemplo: A conversação entre si deve ser a mínima possível, o fluxo de pessoas deve ser controlado, somente o pessoal necessário deve ficar na área de manipulação, os integrantes que irão realizar o procedimento devem estar limpos e mais estéreis possíveis e devem permanecer no local de manipulação o tempo todo, se

determinados membros começarem o procedimento, os mesmos devem ali ficar até o final.

Lucca e Torres (2002) mostraram em estudos com vendedores de alimentos nas ruas que a simples falta de higienização de utensílios, armazenadores de molhos, como catchup, por exemplo, de carros de trabalho e das mãos são veículos de transmissão de microorganismos capazes de promover malefícios as pessoas.

A ANVISA (2006) mostra que é importante verificar se os manipuladores de alimentos realizam seus afazeres com as mãos nuas ou se usam proteções como luvas plásticas descartáveis, se há presença de feridas ou lesões passíveis de infecção ou já infectadas, não permitindo que estes manipulem alimentos.

É necessário também que o estabelecimento possua sabonetes, toalhas de papel, pia e água quente para facilitar a higiene pessoal, instruir os funcionários a lavarem as mãos após usar o sanitário, tossir, espirrar, assuar o nariz ou tocar ferimentos e curativos e antes de iniciarem a manipulação dos alimentos. As superfícies, os utensílios, os equipamentos, os acessórios e os móveis devem ser totalmente limpos e, quando necessário, desinfetados após manipular ou processar alimentos crus, em especial carnes (BRYAN, 1981). Todos esses procedimentos podem ser feitos com custo razoavelmente baixo, com a utilização de produtos de limpeza comuns no dia a dia. A simples lavagem das mãos com sabonete ou detergente, antes e depois de manipular os alimentos, aplicação de sabões em pó na área de manipulação e ter cuidados com a estocagem dos produtos garantem uma redução considerável do risco de contaminação. As doenças veiculadas por alimentos podem ser prevenidas a partir de campanhas educativas elucidam os manipuladores dos riscos que eles podem levar ao contaminar os alimentos que serão colocados para comercialização. O comprometimento de todos os envolvidos no do início ao fim do processamento dos alimentos é uma condição primordial para o sucesso da conservação do produto por meio das boas práticas de manipulação (PINHEIRO et al., 2010).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo constatou que o modo que a equipe se prepara e o preparo adequado do ambiente de manipulação influencia na contaminação microbiológica do filé de Catfish e Tilápia.

REFERÊNCIAS

- AGNESE, A. P.; DE OLIVEIRA, V. M.; SILVA, P. P. O.; OLIVEIRA, G. A. Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e Enumeração de Coliformes Totais e Fecais, em Peixes Frescos Comercializados no Município de Seropédica–Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**, v.15, n88, p.67-70, set. 2001.
- ANVISA – **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. CODEX ALIMENTARIUS – HIGIENE DOS ALIMENTOS – TEXTOS BÁSICOS. The Secretary, Codex Alimentarius Commission. p.64. 2006.
- ANVISA - **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. 2001.
- BARTOLOMEU, D. A. F. S.; DALLABONA, B. R., DE MACEDO, R. E. F.; KIRSCHNIK, P. G. Contaminação Microbiológica Durante as Etapas de Processamento de Filé de Tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Archives of Veterinary Science**. v.16, n.1, p.21-30, 2011.
- BARTOLOMEU, D. A. F. S., Dallabona, B. R., de Macedo, R. E. F., & Kirschnik, P. G. Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Archives of veterinary Science**, v. 16, n. 1, 2011.
- BIATO, D. O. **Deteção de off flavor em Tilápia do Nilo (*Oreochromis, niloticus*), por meio de depuração e defumação**. 105 f. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- BORGES, M. F.; ANDRADE, A. P. C.; MACHADO, T. F. Salmonelose Associada ao Consumo de Leite e Produtos Lácteos. **Embrapa Agroindústria Tropical Fortaleza**, 2010.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2018.
- BRYAN, F. L. Hazard Analysis of Food Service Operations. **Food Technology**, v.32, p.78 - 87, 1981.
- CONTE JÚNIOR, C. A. & RODRIGUES, B. L. 2013. Tecnologia avançada na conservação de pescado. **Revista Animal Business Brasil**, 3,50-56.
- DA SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI M. H.; DOS SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. LOGOMARCA VARELA 3ª ed., p109, São Paulo, SP, 2007.
- DO AMARAL VIANA, I. C. L., VALIATTI, T. B., SOBRAL, F. D. O. S., ROMÃO, N. F., FONSECA, C. X., & DE OLIVEIRA, U. A. Análise microbiológica do tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na feira municipal de Ariquemes, Estado de Rondônia, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 2, p. 7-7, 2016.

DUARTE, D. A. M., RIBEIRO, A. R., VASCONCELOS, A. M. M., SILVA, J. V. D., ANDRADE, P. L. A., & SANTANA, A. A. P. Ocorrência de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva em pescado no nordeste, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 711-713, 2010.

EDUARDO, M. B. P.; FERNANDES, S.; KATSUYA, E. M.; BASSIT, N. P.; TAVECHIO, A.T.; GUILARDI, A.C.; VAZ, T.M.I. Food borne Disease Outbreaks in the State of São Paulo, Brazil. In: **Program and Abstract Book International Conference on Emerging Infectious Disease**. Anaias: Atlanta, Georgia, and USA. Georgia: CDC. p.97. 2008.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária. **A importância do manejo higiênico-sanitário na qualidade do pescado**. 2016.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals. **Fisheries and Aquaculture Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome**, 2018.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Sustainability in action. **Fisheries and Aquaculture Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome**, 2020.

FERNANDES, D. V. G. S., CASTRO, V. S., CUNHA NETO, A. D., & FIGUEIREDO, E. E. D. S. Salmonella spp. in the fish production chain: a review. **Ciência Rural**, v. 48, n. 8, 2018.

FILHO, E. S.; FILHO, A. N. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em Queijo Tipo "Frescal". Occurrence of *Staphylococcus aureus* in Cheese Made in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.6, p.578-80, 2000.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais** (Vol. 1). Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

FRANCO, B. D. G. M. & LANDGRAF, M. 2003. **Microbiologia dos alimentos**. Atheneu, São Paulo.

FREITAS, C. G. **Importância do controle de *Salmonella* sp. no abate de aves**. Brasília, 2010.

GAZAL, L. E. S.; de BRITO, K. C. T.; CAVALLI, L. S.; KOBAYASHI, R. K. T.; NAKAZATO, G.; OTUTUMI, L. K. & de BRITO, B. G. Salmonella sp. em peixes—qual a importância para sanidade em pescado? **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, 24(1/2), 55-64. 2018

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S.; OLIVEIRA, C. A. F. Aspectos da qualidade do pescado de relevância em saúde pública. **Revista. Higiene Alimentar**, v.12, n.53, p.30-37, 1998.

JARVIS, N. A., O'BRYAN, C. A., DAWOUD, T. M., PARK, S. H., KWON, Y. M., CRANDALL, P. G., & RICKE, S. C. An overview of *Salmonella* thermal destruction during food processing and preparation. **Food Control**, v. 68, p. 280-290, 2016.

LUCCA, A.; TORRES, E. A. F. S. Condições de Higiene de "Cachorro-Quente" Comercializado em Vias Públicas. Hygienic Conditions of Hot Dogs Sold on the Streets, Brazil. **Revista Saúde Pública**, v.36 n.3, p.350-352, 2002.

MELLO, S.C. R. P.; FREITAS, M. Q.; SÃO CLEMENTE, S. C.; FRANCO, R. M.; NOGUEIRA, E. B.; FREITAS, D. D. G. C. Desenvolvimento e Caracterização Bacteriológica, Química e Sensorial de "Fishburgers" de Polpa e "Surimi" de Tilápia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64 n.5, 2012.

MINOZZO, M. G. **Processamento e conservação do pescado**. Curitiba, 2016.
OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado**. São Paulo, v.1, ed. Varela, 1999.

OLIVEIRA, N. M. S.; OLIVEIRA, W. R. M.; NASCIMENTO, L. C.; DA SILVA, J. M. S. F.; VICENTE, E.; FIORINI, J. E.; BRESSAN, M. C. Avaliação Físico-Química de Filés de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) Submetidos à Sanitização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.1, p.83-89, jan-mar, 2008.

PERESI, J. T. M.; ALMEIDA, I. A. Z. C.; LIMA S. I.; MARQUES, D. F.; RODRIGUES, E. C. A.; FERNDANDES, S. A.; GELLI, D. S.; IRINO, K. Surtos de Enfermidades Transmitidas por Alimentos Causados por *Salmonella enteritidis*. **Revista de Saúde Pública Journal of Public Health**, v. 32 n.5, p.477-483, 1998.

PINHEIRO, M. B.; WADA, T. C.; PEREIRA, C. A. M. ANÁLISE Microbiológica de Tábuas de Manipulação de Alimentos de uma Instituição de Ensino Superior em São Carlos, Sp. **Revista Simbio-Logias**, v.3, n.5, p.115-124, 2010.

PONTES, W. P., PONTUSCHKA, R. B., DANTAS FILHO, J. V., dos SANTOS, A. M., & CAVALI, J. CADEIA DO PESCADO: *Salmonella spp.* COMO AGENTE CONTAMINANTE. **Revista Ciência e Saúde Animal**, v. 2, p. 48-68, 2020.

RADDI, M. S. G.; LEITE, C. Q. F.; MENDONÇA, C. P. *Staphylococcus aureus*: Portadores Entre Manipuladores de Alimentos. **Revista Saúde Pública**, v.1, n.22. p.36-40. São Paulo, 1988.

SANTIAGO, J. D. A. S., ARAÚJO, P. F. R., SANTIAGO, A. P., CARVALHO, F. C. T. D., & VIEIRA, R. H. S. D. F. **Bactérias patogênicas relacionadas à ingestão de pescados**-revisão. 2013.

SHINOHARA, N. K. S., BARROS, V. B. D., JIMENEZ, S. M. C., MACHADO, E. D. C. L., DUTRA, R. A. F., & LIMA FILHO, J. L. D. *Salmonella spp.*, importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, p. 1675-1683, 2008.

SOARES, K. M. P. & GONÇALVES, A. A. 2012. QUALIDADE e segurança do pescado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 71, 1-10.

SOCCOL, M. C. H. & OETTERER, M. Seafood as functional food. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. 3, p. 443-454, 2003.

SOUZA, C. P. Segurança Alimentar e Doenças Veiculadas por Alimentos: Utilização do Grupo Coliforme Como um dos Indicadores de Qualidade De Alimentos. **Revista APS**, v.9, n.1, p.83-88, 2006.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado: Teoria e Prática**. São Paulo: ed. Varela, 2003. 380p.

TOLERÂNCIA AGUDA A SALINIDADE DA ÁGUA NA RÃ-TOURO (*Lithobates catesbeianus*) EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO

Rafael Lucas de Oliveira Silva¹; Fernando Mazzioli Braga²; Oswaldo Pinto Ribeiro Filho³.

RESUMO

Com o objetivo de estudar a tolerância aguda a salinidade da água para a rã-touro, em diferentes estágios de desenvolvimento, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições para cada fase de desenvolvimento da rã-touro. Os tratamentos foram: para desova, salinidades de 0,0g L⁻¹, 1,0g L⁻¹, 2,0g L⁻¹, 3,0g L⁻¹, 4,0g L⁻¹, 5,0g L⁻¹, 6,0g L⁻¹ e 7,0g L⁻¹. Para girinos, no estágio 25, 26 e 41, sendo de, respectivamente: 0,0g L⁻¹, 3,0g L⁻¹, 3,75g L⁻¹, 4,5g L⁻¹, 5,25g L⁻¹ e 6,0g L⁻¹; 0,0g L⁻¹, 6,0g L⁻¹, 6,75g L⁻¹, 7,5g L⁻¹, 8,25g L⁻¹, e 9,0g L⁻¹; e 0,0g L⁻¹, 7,5g L⁻¹, 8,25g L⁻¹, 9,0g L⁻¹, 9,75g L⁻¹ e 10,5g L⁻¹. Para imagos, juvenis e adultos, respectivamente: 0,0g L⁻¹, 6,75g L⁻¹, 7,5g L⁻¹, 8,25g L⁻¹, 9,0g L⁻¹ e 9,75g L⁻¹; 0,0g L⁻¹, 8,25g L⁻¹, 9,0g L⁻¹, 9,75g L⁻¹, 10,5g L⁻¹ e 11,25g L⁻¹; e 0,0g L⁻¹, 9,0g L⁻¹, 9,75g L⁻¹, 10,5g L⁻¹, 11,25g L⁻¹ e 12,0g L⁻¹. Como resultados obtivemos que a concentração máxima tolerada de sal é de 4,83g L⁻¹ para girinos na fase 25, 6,0g L⁻¹ na fase 26 e 6,8g L⁻¹ na fase 41 de Gosner (1960). Para animais pós-metamórficos a concentração máxima tolerada de sal é de 6,0g L⁻¹ para imagos, 9,0g L⁻¹ para juvenis e 9,75g L⁻¹ para animais adultos. É possível de se utilizar o sal para os mais diversos fins relacionados a rã-touro, desde que respeitado a tolerância do animal em sua respectiva fase de desenvolvimento.

Palavras-chave: Rã-touro. Girinos. Desova. Salinidade.

ABSTRACT

In order to study the acute tolerance to water salinity for bullfrogs, at different stages of development, a completely randomized design with six treatments and four repetitions was used for each bullfrog development phase. The treatments were: spawning, salinity of 0.0g L⁻¹, 1.0g L⁻¹, 2.0g L⁻¹, 3.0g L⁻¹, 4.0g L⁻¹, 5.0g L⁻¹, 6.0g L⁻¹ and 7.0g L⁻¹. For tadpoles, in stages 25, 26 and 41, respectively: 0.0g L⁻¹, 3.0g L⁻¹, 3.75g L⁻¹, 4.5g L⁻¹, 5.25g L⁻¹ and 6.0g L⁻¹; 0.0g L⁻¹, 6.0g L⁻¹, 6.75g L⁻¹, 7.5g L⁻¹, 8.25g L⁻¹, and 9.0g L⁻¹; and 0.0g L⁻¹, 7.5g L⁻¹, 8.25g L⁻¹, 9.0g L⁻¹, 9.75g L⁻¹ and 10.5g L⁻¹. For images, juveniles and adults, respectively: 0.0g L⁻¹, 6.75g L⁻¹, 7.5g L⁻¹, 8.25g L⁻¹, 9.0g L⁻¹ and 9.75g L⁻¹; 0.0g L⁻¹, 8.25g L⁻¹, 9.0g L⁻¹, 9.75g L⁻¹, 10.5g L⁻¹ and 11.25g L⁻¹; and 0.0g L⁻¹, 9.0g L⁻¹, 9.75g L⁻¹, 10.5g L⁻¹, 11.25g L⁻¹ and 12.0g L⁻¹. As a result, we obtained that the maximum tolerated salt concentration is 4.83g L⁻¹ for tadpoles in phase 25, 6.0g L⁻¹ in phase 26 and 6.8g L⁻¹ in phase 41 of Gosner (1960). For post-metamorphic animals, the maximum tolerated salt concentration is 6.0g L⁻¹ for images, 9.0g L⁻¹ for juveniles and 9.75g L⁻¹ for adult animals. It is possible to use salt for the most diverse

¹ Mestrando em Biologia Animal pela Universidade Federal de Viçosa.

<http://lattes.cnpq.br/3722552996608105>. E-mail: rafaellucas827@gmail.com.

² Graduando em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

<http://lattes.cnpq.br/4971141911286491>. E-mail: fernandobragamazzioli@gmail.com.

³ Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa. Professor do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa. <http://lattes.cnpq.br/4470574323962701>. E-mail: oribeiroufv@hotmail.com.

purposes related to bullfrogs, as long as the animal's tolerance in its respective stage of development is respected.

Keywords: Bullfrog. Tadpoles. Spawning. Salinity.

INTRODUÇÃO

Como o início da vida da rã-touro acontece no ambiente subaquático, é importante ficar atento aos parâmetros de qualidade da água. Deste modo, o conhecimento das características qualitativas da água é de fundamental importância, tanto para a compreensão do ambiente aquático em que os animais estão inseridos, como para o estudo desses organismos (Cribb, 2013; Seixas Filho, 2017).

Na ranicultura, a fase de criação de girinos, ou girinagem, é de imprescindível importância. Esta fase determina a produção de imagos em qualidade e quantidade suficientes para o bom desenvolvimento na fase de engorda, com índices zootécnicos considerados satisfatórios (Hayashi, 2004; Sipaúba-Tavares, 2008).

A criação de girinos é a etapa da ranicultura que menos apresenta problemas para o ranicultor. Mas não são poucos os relatos de casos em que a incidência de doenças resulte em alta mortalidade e inviabilize todo sistema de produção. Animais que não crescem e não se desenvolvem conforme o esperado, representam perdas diretas no custo de produção (Castro, 2001; Hayashi 2004).

Em peixes, o uso do sal durante o manejo, é uma metodologia aplicada para reduzir o estresse causado durante captura, transporte, alta densidade e alterações na qualidade da água. O sal também é benéfico para prevenir doenças (Beux, 2007; de Carvalho Gomes, 2003; Dias, 2018; Salaro, 2012). É utilizado na profilaxia ou tratamento de várias enfermidades em organismos aquáticos, sendo eficaz no controle de *Cichlidogyrus sclerosus*, *Gyrodactylus sp*, *Trichodina sp* e *Ichthyophthirius sp* (Garcia, 2007; Moreira, 2011).

O sal é potente em reduzir a diferença osmótica entre o animal e o meio externo e reduzir o estresse (Brandão, 2008; Luz, 2008). A adição do sal à água reduz os níveis de cortisol no plasma sanguíneo, previne problemas osmorregulatórios e diversas outras respostas fisiológicas. Contribuindo para reduzir da mortalidade dos animais (Bringolf, 2005; Carneiro, 2001; da Veiga Moreira, 2011; Evans, 2020; Jomori, 2013; Luz, 2008; Zuanon, 2009).

De Boeck (2000) estudando a carpa comum (*Cyprinius carpio*) descreveu que o crescimento pode ser afetado por diferentes concentrações salinas devido a

alteração do requerimento energético necessário a regulação iônica ou osmótica do animal. Em *Salmo trutta* o aumento da salinidade em até 3% resulta em maior crescimento, enquanto, crescem menos em 9% de salinidade.

A salinidade, quando muito alta, é prejudicial para os organismos aquáticos. Com efeitos diretos, como alteração nos comportamentos natatório e alimentar (diminuindo o consumo), e podendo ocorrer desidratação muscular. Fashina-Bombata (2003) trabalhando com o catfish africano (*Heterobranchus longifilis*) demonstrou que a salinidade pode afetar o grau de desenvolvimento de embriões e Okamoto (2009) concluiu que a salinidade excessiva resulta em deformidades na enguia japonesa (*Anguilla japonica*).

Mesmo que a alta salinidade não seja um parâmetro da água propício à criação das diversas espécies até hoje estudadas, incluindo a rã-touro, o conhecimento dos níveis de tolerância pode auxiliar na realização do manejo profilático e terapêutico utilizando o sal através da aplicação em curtos períodos de tempo. O banho em solução salina, de rápida imersão, é procedimento recomendado no combate a diversas enfermidades que afetam os animais aquáticos (Jomori, 2013).

Este trabalho foi realizado com objetivo de estudar a tolerância aguda a salinidade da água na rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) em diferentes estágios de desenvolvimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Ranário Experimental do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (20°46'25.9"S 42°51'38.0"W). Utilizando 1600 embriões, 864 girinos e 432 pós-metamórficos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*), todos irmãos. Adaptou-se a metodologia para teste de toxicidade aguda recomendada pela OECD (2019) e pela AOAC (1990). O experimento se dividiu em três etapas: testes em desova; testes em girinos; e testes em pós-metamórficos.

Na primeira etapa, trabalhando com a desova, os embriões no estágio 10 de Gosner (1960), foram distribuídos em 32 caixas plásticas retangulares (57,5cm x 24,5cm x 18,0cm), contendo doze litros de água cada, na densidade de 0,24 litros de água por embrião, como recomendado por (Cribb 2013).

Aleatoriamente as caixas foram distribuídas para os oito tratamentos de concentração salina. Sendo, 0,00g L⁻¹, 1,00g L⁻¹, 2,00g L⁻¹, 3,0g L⁻¹, 4,00g L⁻¹, 5,00g

L⁻¹, 6,00g L⁻¹ e 7,00g L⁻¹. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com oito tratamentos e quatro repetições.

Na segunda etapa, utilizando os girinos, os animais foram divididos em três grupos de 288 animais de acordo com o estágio de desenvolvimento. Sendo estas, de acordo com Gosner (1960), as fases 25, 26 e 41 de desenvolvimento. O procedimento experimental executado para cada estágio foi o mesmo. Os animais foram distribuídos em vinte e quatro caixas plásticas retangulares (57,5 cm x 24,5 cm x 18,0 cm), contendo doze litros de água cada, na densidade de um litro de água por animal como recomendado por (Cribb 2013). As caixas receberam aleatoriamente os tratamentos de concentração salina de 0,00g L⁻¹, 3,00g L⁻¹, 3,75g L⁻¹, 4,50g L⁻¹, 5,25g L⁻¹ e 6,00g L⁻¹ para o grupo na fase 25 de Gosner (1960); 0,00g L⁻¹, 6,00g L⁻¹, 6,75g L⁻¹, 7,50g L⁻¹, 8,25g L⁻¹, e 9,00g L⁻¹ para o grupo na fase 26 de Gosner (1960); e 0,00g L⁻¹, 7,50g L⁻¹, 8,25g L⁻¹, 9,00g L⁻¹, 9,75g L⁻¹ e 10,50g L⁻¹ para o grupo na fase 41 de Gosner (1960). Utilizou-se para cada estágio de desenvolvimento, o delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições.

Na terceira etapa, trabalhando com animais pós-metamórficos, estes foram divididos em três grupos de 144 animais, de peso médio distintos. Sendo estes grupos formados por imagos (peso médio de 15g), juvenis (peso médio de 30g) e adultos (peso médio de 200g).

O procedimento experimental executado para cada um dos três grupos foi o mesmo. Os animais foram distribuídos em trinta e duas caixas plásticas retangulares (57,5cm x 24,5cm x 18,0cm) de 14 litros de volume útil, contendo seis litros de água cada, na densidade de 1 litro por animal.

As caixas aleatoriamente receberam um dos seis tratamentos de concentração salina testados para cada grupo. Sendo que para imagos foram utilizados 0,00g L⁻¹, 6,75g L⁻¹, 7,50g L⁻¹, 8,25g L⁻¹, 9,00g L⁻¹ e 9,75g L⁻¹; para os juvenis os tratamentos foram de 0,00g L⁻¹, 8,25g L⁻¹, 9,00g L⁻¹, 9,75g L⁻¹, 10,50g L⁻¹ e 11,25g L⁻¹; e para os adultos eram 0,00g L⁻¹, 9,00g L⁻¹, 9,75g L⁻¹, 10,50g L⁻¹, 11,25g L⁻¹ e 12,00g L⁻¹.

Utilizou-se, portanto, para cada estágio de desenvolvimento, o delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos, quatro repetições e seis animais por unidade experimental.

Nas três etapas, os animais foram mantidos previamente 24 horas nas unidades experimentais para adaptação, e durante o experimento, em bancada dentro de sala climatizada com aquecimento, termostato e timer ajustados para temperatura

de $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12h:12h (claro: escuro). Os girinos foram alimentados seis vezes ao dia, utilizando ração para peixes onívoros (360g Kg^{-1} de PB), na quantidade equivalente a 50g Kg^{-1} do peso vivo dos animais. Os pós-metamórficos não receberam alimentação. Diariamente os animais mortos eram removidos, registrados e incinerados, o fundo das caixas sifonado para retirada das fezes acumuladas e a água escoada, repostada com água de mesma concentração do tratamento recebido. Foram monitorados diariamente o pH e a amônia, através do teste colorimétrico. Os animais foram mantidos nas unidades experimentais durante 96 horas.

Por meio dos dados coletados foram calculadas a concentração letal média ($\text{CL}_{5096\text{h}}$), estimada pela curva de regressão logística da letalidade provável em função da concentração de sal na água, utilizando o software GraphPad Prism 7[®]; concentração mínima para letalidade total (CLT), definida como menor concentração na qual houve 100% de mortalidade; e concentração máxima tolerada (CMT), definida como a concentração máxima imediatamente antes da primeira morte, assim definido por Chen (2000).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

No gráfico 1 é apresentado a tolerância da desova a salinidade da água. Foi definido como sendo $1,00\text{g L}^{-1}$ a concentração subletal máxima tolerada ou concentração máxima sem registro de mortalidade dos embriões.

Logo, ao se optar por fazer uso do sal na água do setor de reprodução de um ranário para higienização, incubação, combate a proliferação de fungos e bactérias, ou para fins científicos, recomenda-se, salinidade máxima de $1,00\text{g L}^{-1}$.

Outro fator importante a se levar em conta em relação a salinidade ideal a desova, é a flutuabilidade. A flutuação dos ovos está relacionada a sua densidade em relação a densidade da própria água, fator este, que pode ser alterado pela concentração salina. Desova em salinidade elevada, flutua, e em baixa salinidade, afunda.

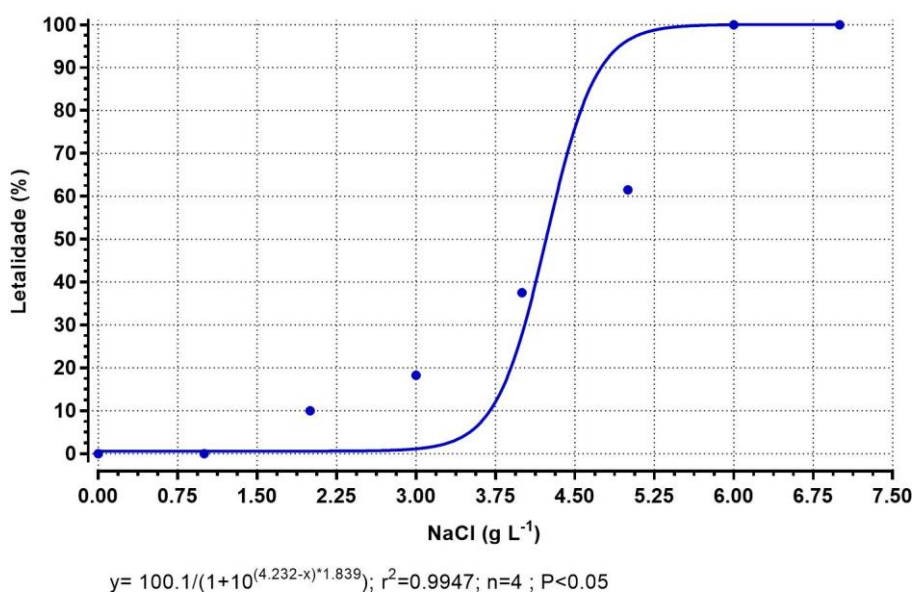
No ambiente natural em que vive a rã-touro, o ideal é que os ovos flutuem próximo a superfície. Afundando, teriam menor chance de sobreviver, devido à baixa temperatura e menor oxigenação.

Fato este, também discutido por outros autores como Beux (2007), que realizando trabalho semelhante, concluiu que o ideal para a maior eclosão da desova

do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) é de 1,70g L⁻¹. De Araujo (2005), demonstrou que a salinidade entre 30,00g L⁻¹ a 35,00g L⁻¹ para o robalo-peva (*Centropomus parallelus*) aumenta o índice de eclosão da desova.

No limite de 1,00g L⁻¹, garante-se maior fluutuabilidade da desova, sem incorre em aumento da mortalidade devido a concentração salina elevada.

Gráfico 1: Curva de letalidade (%) dos embriões de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) na fase 10 de Gosner (1960), em função da salinidade



Fonte: o próprio autor.

Em 2,00g L⁻¹, a mortalidade de 10,0% foi registrada apenas em 72 horas de exposição (Tabela 1). Portanto, a desova pode ser exposta a esta concentração salina desde que por curto período de tempo. Corroborando com o que Krasteva (2020) indicou ao trabalhar com embriões de catfish (*Silurus glanis*), este intervalo de salinidade pode ser utilizado para fins profiláticos.

A concentração letal média, ou a concentração na qual a mortalidade da desova foi de 50,0% dos embriões, foi calculada pela regressão logística, como sendo de 4,23g L⁻¹. Nas concentrações entre 2,00 a 5,00g L⁻¹, registrou-se mortalidade, mas com resistência ou adaptabilidade dos embriões. A inclinação lenta da curva de mortalidade indica a adaptabilidade osmótica dos embriões a salinidade nestes níveis.

Na tabela 1, fica evidente que em salinidade entre 6,00g L⁻¹ e 7,00g L⁻¹, a mortalidade é de 100% em 24 horas de exposição. Portanto, a salinidade máxima tolerada pela desova de rã-touro, é de 6,00g L⁻¹.

Tabela 1: Mortalidade acumulada da desova de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*), na fase 10 de Gosner (1960), em função da salinidade (g L^{-1})

Desova [g L^{-1}]	Mortalidade acumulada (%)			
	24h	48h	72h	96h
0,00	0	0	0	0
1,00	0	0	0	0
2,00	0	0	10	-
3,00	9	20	28	-
4,00	0	31	37	-
5,00	12	38	66	-
6,00	100	-	-	-
7,00	100	-	-	-

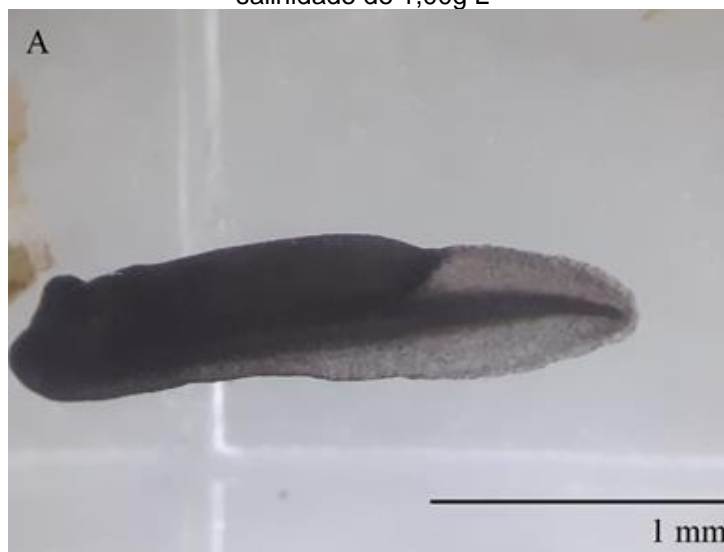
Fonte: o próprio autor.

Ao se comparar as figuras 1 e 2, nota-se como que o grau de desenvolvimento dos embriões expostos a concentração de $1,00\text{g L}^{-1}$ (Figura 1), foi mais avançado após as 96 horas, do que o de embriões sobreviventes na concentração de $2,00\text{g L}^{-1}$ (figura 2). Portanto a salinidade retardou o desenvolvimento da cauda, embora não tenha causado a morte do embrião.

No gráfico 2 pode ser visto que girinos na fase 25 (Gosner, 1960) tem 50% de letalidade do lote, ou CL_{50} (96 horas) na concentração salina de $5,22\text{g L}^{-1}$. Na fase 26 de Gosner (1960), a CL_{50} (96 horas) é de $7,95\text{g L}^{-1}$. Animais na fase 41 de Gosner (1960) apresentaram CL_{50} (96 horas) de $7,80\text{g L}^{-1}$.

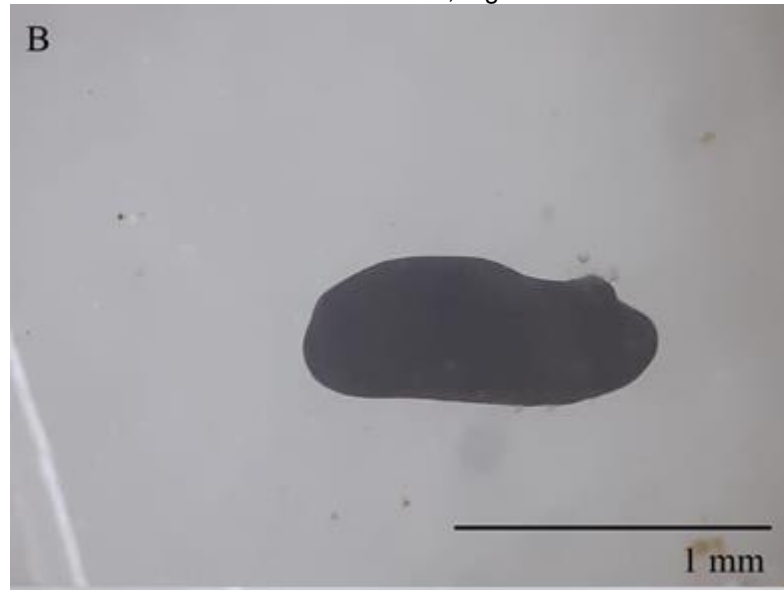
Girinos na fase 25 tem concentração subletal máxima (CSM) a salinidade de $4,83\text{g L}^{-1}$, muito inferior as fases 26 e 41, respectivamente, $6,00\text{g L}^{-1}$ e $6,80\text{g L}^{-1}$.

Figura 1: Embrião de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) após 96 horas de desenvolvimento em salinidade de $1,00\text{g L}^{-1}$



Fonte: o próprio autor.

Figura 2: Embrião de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) após 96 horas de desenvolvimento em salinidade de 2,00g L⁻¹



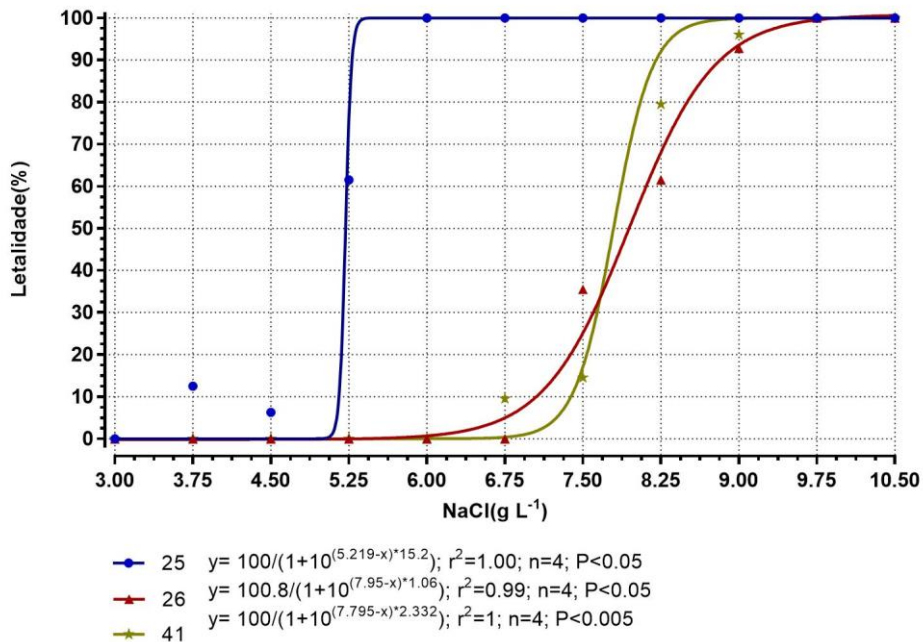
Fonte: o próprio autor.

Chen (2000) definiu a concentração ideal de 14,00g L⁻¹ para o transporte de *Haliotis diversicolor supertexta*. Moreira (2011) concluiu que juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) toleram até 12,00g L⁻¹. Portanto, estas espécies tem maior tolerância a salinidade que o girino de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*), que poderá ser exposto, independente da fase, a até 4,83g L⁻¹, sem incidir em mortalidade. Dias (2018) indicou o uso de 2,00g L⁻¹ de sal na água para estocagem de larvas de *Betta splendens*.

É notável a brusca mudança na tolerância a salinidade entre os girinos da fase 25 e da fase 26 de Gosner (1960). As duas fases se diferenciam pela presença de brânquias na fase 25, e sua total absorção na fase 26.

As brânquias são o fator preponderante na tolerância a salinidade, uma vez que apresentam alta permeabilidade para o meio, permitindo não somente a troca de gases entre o sangue e a água, como também excreção da amônia e perda ou absorção de diversos eletrólitos como dissertado por Kubitzka (2007). Desta forma o animal tem menor controle osmorregulatório, estando susceptível a perda de água para o meio hipertônico.

Gráfico 2: Curvas de letalidade (%) de girinos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) nos estágios 25, 26 e 41 de Gosner (1960), após 96 horas de exposição a diferentes concentrações salinas



Fonte: o próprio autor.

Na tabela 2, fica claro que girinos na fase 25 não resistem a 24 horas de exposição a $6,00 \text{ g L}^{-1}$ de salinidade. Enquanto que entre de $3,75 \text{ g L}^{-1}$ e $6,00 \text{ g L}^{-1}$, a probabilidade de sobrevivência reduz de acordo com o tempo de exposição. Indicando que o animal nesta fase de desenvolvimento, tem tolerância a curtos períodos de tempo exposto a esta salinidade. Portanto, esta faixa de salinidade, é possível de ser utilizada em infusão salina para fins profiláticos ou científicos.

Tabela 2: Mortalidade acumulada (%) ao longo das 96 horas para girinos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) no estágio 25 de Gosner (1960), em função da salinidade (g L^{-1})

Est. 25 [g L^{-1}]	Mortalidade acumulada (%)			
	24h	48h	72h	96h
0,00	0	0	0	0
3,00	0	0	0	0
3,75	0	2	8	12
4,50	22	34	56	61
5,25	31	40	62	-
6,00	100	-	-	-

Fonte: o próprio autor

Para as fases 26 e 41 de Gosner (1960), tabelas 3 e 4, a salinidade a partir da qual a letalidade aumenta de acordo com a elevação da concentração salina, foi definida como sendo, respectivamente, $6,75 \text{ g L}^{-1}$ e $8,25 \text{ g L}^{-1}$.

Nenhum animal, independente do estágio de desenvolvimento, sobrevive a mais que 72 horas de exposição a $9,00\text{g L}^{-1}$ de salinidade. Morrendo devido a desidratação dos tecidos, bloqueio do potencial de ação na membrana dos axônios e perda da capacidade de realização de trocas gasosas das brânquias (Evans, 2020).

Tabela 3: Mortalidade acumulada (%) ao longo das 96 horas para girinos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) no estágio 26 de Gosner (1960) em função da salinidade (g L^{-1})

Est. 26 [g L^{-1}]	Mortalidade acumulada (%)			
	24h	48h	72h	96h
0,00	0	0	0	0
6,00	0	0	0	0
6,75	6	15	24	32
7,50	10	67	83	92
8,25	6	40	56	62
9,00	35	97	100	-

Fonte: o próprio autor.

Tabela 4: Mortalidade acumulada (%) ao longo das 96 horas para girinos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) no estágio 41 de Gosner (1960) em função da salinidade (g L^{-1})

Est. 41 [g L^{-1}]	Mortalidade acumulada (%)			
	24h	48h	72h	96h
0,00	0	0	0	0
7,50	0	0	0	0
8,25	23	48	58	-
9,00	96	100	-	-
9,75	96	100	-	-
10,50	100	-	-	-

Fonte: o próprio autor.

As fases 26 e 41, ambas apresentaram concentração subletal máxima e CL_{50} muito próximas. Diferenciando apenas no fato de os animais em 26 apresentarem curva de letalidade com maior inclinação. Portanto, girinos em 26 de Gosner (1960) tem maior faixa de tolerância a salinidade em relação a girinos em 41 de Gosner (1960). A maior tolerância se explica pelo fato de que animais na fase 41 estão próximos do clímax da metamorfose, as alterações na anatomia e fisiologia do animal comprometem sua eficiência de osmoregulação. Assim a salinidade acima de $6,75\text{g L}^{-1}$ representa um fator comprometedor ao desenvolvimento sadio nesta fase da vida do animal.

Como demonstrado no gráfico 3, imagos apresentaram 50% de letalidade do lote, CL_{50} (96 horas), em salinidade de $7,61\text{g L}^{-1}$. Os juvenis demonstraram CL_{50} (96 horas) em $9,95\text{g L}^{-1}$ e adultos em $11,05\text{g L}^{-1}$. A concentração subletal máxima para

imagos é de 6,00g L⁻¹, muito inferior aos juvenis e adultos, respectivamente 9,00g L⁻¹ e 9,75g L⁻¹.

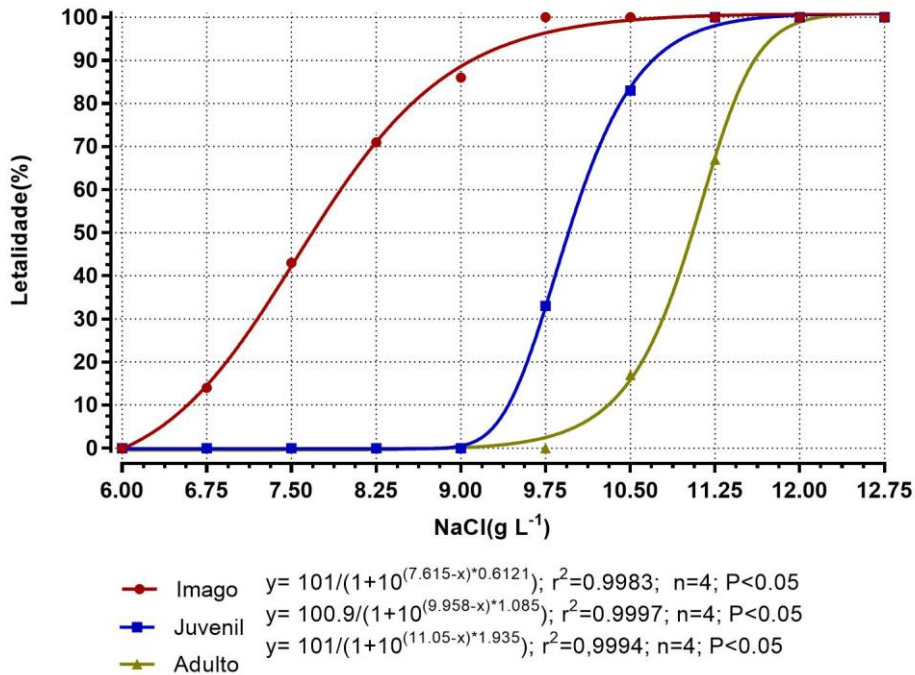
No gráfico 3, nota-se que a curva de letalidade para imagos tem maior inclinação do que as demais. Indicando que embora tenha menor concentração subletal máxima tolerada, imagos tem maior capacidade de adaptação a salinidade da água. Havendo sobrevivência até a salinidade de 9,75g L⁻¹, neste nível ocorreu a mortalidade total, uma diferença de 3,75g de sal.

Juvenis e adultos após a concentração subletal máxima, ocorre a mortalidade total, respectivamente, em 11,25g L⁻¹ e 12,00g L⁻¹. Aumento de apenas 2,25g de sal acima da concentração subletal máxima. Juvenis e adultos perdem ou diminuem sua capacidade de se adaptar a alta salinidade, capacidade esta, mais eficiente em imagos.

Como demonstrado na tabela 5, na adição de sal a água no momento do transporte de imagos, não se deve ultrapassar a concentração de 6,75g L⁻¹, até a qual não se registra mortalidade.

Nas tabelas 6 e 7, juvenis e adultos tem boa tolerância salinidades menores que 9,00g L⁻¹, uma vez que nestes níveis não se registrou mortalidade dos animais expostos a 96 horas.

Carneiro (2001) recomendou salinidade de 0,60g L⁻¹ no transporte de matrinxã (*Brycon cephalus*). Brandão (2008) indicou 6,00g L⁻¹ para o transporte de pirarucu (*Arapaima gigas*) até 1,0Kg. Gomes (2003) recomendou até 8,00g L⁻¹ para o transporte de tambaqui. Portando, imagos, juvenis e adultos de rã-touro toleram concentrações salinas, para transporte, semelhantes as concentrações geralmente utilizadas para reduzir os efeitos de estresse no transporte destes peixes de produção.

Gráfico 3: Curva de letalidade (%) de imagos, juvenis e adultos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*), após 96 horas de exposição a diferentes concentrações salinas

Fonte: o próprio autor.

Houve 100% de mortalidade em imagos expostos a $9,75 \text{ g L}^{-1}$ em 24 horas (Tabela 5). Em $6,75 \text{ g L}^{-1}$ e $7,50 \text{ g L}^{-1}$ a mortalidade de 1,0% e 7,0% foi registrada após 48 horas de exposição. Logo, este animal sobrevive a exposição menor que 24 horas as salinidades entre $6,75 \text{ g L}^{-1}$ e $7,50 \text{ g L}^{-1}$.

Na tabela 6 e 7, após 96 horas, há 100% de mortalidade dos juvenis e adultos em salinidade de $11,25 \text{ g L}^{-1}$. Indicando que está é a concentração em que nenhum pós-metamórfico da rã-touro sobrevive.

Em $9,75 \text{ g L}^{-1}$, a mortalidade atinge 33,0% dos juvenis após 96 horas de exposição. O mesmo ocorreu com os animais adultos, que também não apresentaram mortalidade, na exposição a esta salinidade, antes das 96 horas.

Tabela 5: Mortalidade acumulada (%) ao longo das 96 horas para as imagos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) em função da salinidade (g L^{-1})

PM = 15g [g L ⁻¹]	Mortalidade acumulada (%)			
	24h	48h	72h	96h
0,00	0	0	0	0
6,75	0	1	14	0
7,50	0	7	14	42
8,25	50	57	71	-
9,00	64	78	85	-
9,75	100	-	-	-

Fonte: o próprio autor.

Tabela 6: Mortalidade acumulada (%) ao longo das 96 horas para os juvenis de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) em função da salinidade (g L^{-1})

PM = 27g [g L^{-1}]	Mortalidade acumulada (%)			
	24h	48h	72h	96h
0,00	0	0	0	0
8,25	0	0	0	0
9,00	0	0	0	0
9,75	0	0	0	33
10,50	16	16	66	82
11,25	50	50	100	-

Fonte: o próprio autor.

Tabela 7: Mortalidade acumulada (%) ao longo das 96 horas para adultos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) em função da salinidade (g L^{-1})

PM=220g [g L^{-1}]	Mortalidade acumulada (%)			
	24h	48h	72h	96h
0,00	0	0	0	0
9,00	0	0	0	0
9,75	0	0	0	16
10,50	0	0	33	66
11,25	16	16	66	100
12,00	16	66	100	-

Fonte: o próprio autor.

CONCLUSÃO

Recomenda-se a salinidade máxima de até $1,00\text{g L}^{-1}$ para a desova. A concentração máxima tolerada de sal é de $4,83\text{g L}^{-1}$ para girinos na fase 25; $6,00\text{g L}^{-1}$ na fase 26; e $6,80\text{g L}^{-1}$ na fase 41 de Gosner (1960). Para animais pós-metamórficos a concentração máxima tolerada de sal é de $6,00\text{g L}^{-1}$ para imagos, $9,00\text{g L}^{-1}$ para juvenis e $9,75\text{g L}^{-1}$ para animais adultos.

AGRADECIMENTOS

Aos revisores deste trabalho pelo espírito solícito, e ao apoio do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (DBA-UFV).

REFERÊNCIAS

AOAC. **Bacteriological Analytical Manual**. EUA: Association of official analytical chemists, 1990. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>. Acesso em: 27 out 2020.

BEUX, Luis Fernando; ZANIBONI FILHO, Evoy. Survival and the growth of pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) post-larvae on different salinities. **Brazilian**

Archives of Biology and Technology, Curitiba, v. 50, n. 5, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-9132007000500010&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 03 nov 2020.

BRANDÃO, Franmir Rodrigues; GOMES, Levy de Carvalho; CRESCÊNCIO, Roger; CARVALHO, Edivania da Silva. Uso de sal durante o transporte de juvenis (1kg) de pirarucu (*Arapaima gigas*). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 38, n. 4, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S0044-5967200800040001n g=en&nrm=iso>. Acesso em: 08 set 2020.

BRINGOLF, Robert B; KWAK, Thomas J; COPE, W Gregory; LARIMORE, Michael S. Salinity tolerance of flathead catfish: implications for dispersal of introduced populations. **Transactions of the American Fisheries Society**, USA, v. 134, n. 4, 2005. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1577/T04-195.1>. Acesso em: 08 set 2020.

CARNEIRO, Paulo Cesar Ferreira; URBINATI, Elisabeth Criscuolo. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther), during transport. **Aquaculture Research**, EUA, v. 32, n. 4, 2001. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2109.2001.00558.x>. Acesso em: 28 out 2020.

CASTRO, Josevane Carvalho; SILVA, Dório Anderson Vicente da; SANTOS, Rondnelly Bitencourt; MODENESI, Vinícius Fassarella; ALMEIDA, Eduardo Faé de Valor nutritivo de alguns alimentos para rãs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 30, n. 3, 2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982001000300001&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 01 nov 2020.

CHEN, Jiann-Chu; CHEN, Wei-Chi Salinity tolerance of *Haliotis Diversicolor supertexta* at different salinity and temperature levels. **Aquaculture**, USA, v. 181, 2000. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848699002264?casa_token=Vj3IML0jOzUAAAAA:QdGZn7CHxpjGAx4Cmk_Kgvb_HAYR Ds465kn-JPiGxFCLtbAdNhJGrS3HQG5lINS4s8_covAkSIY. Acesso em: 30 out 2020.

CRIBB, André Yves; AFONSO, André Muniz; MOSTÉRIO, Cláudia Maris Ferreira. Manual técnico de ranicultura. **Embrapa Agroindústria de Alimentos**, Brasília, DF: EMBRAPA, v. 73, 2013. Disponível em: [http://faculdadeanclivepa.edu.br/images/manuais /manual-ranicultura-versao-final-com-capa.pdf](http://faculdadeanclivepa.edu.br/images/manuais/manual-ranicultura-versao-final-com-capa.pdf). Acesso em: 27 set 2020.

DA VEIGA MOREIRA, Diogo Magalhães; FERREIRA, Pollyanna de Moraes França; ZUANON, Jener Alexandre Sampaio; SALARO, Ana Lúcia; DE OLIVEIRA ALVEZ, Leandro Moreno; DIAS, Devlynn Coelho Tolerância aguda e subcrônica de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) à salinidade da água. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, 2011. Disponível em: <https://ppg.revistas.uema.br/index.php/REPESCA/article/view/370>. Acesso em: 26 out 2020.

DE BOECK, Gudrun; VLAEMINCK, Andrea; VAN DER LINDEN, Annemie; BLUST, Ronny. The energy metabolism of common carp (*Cyprinus carpio*) when exposed to salt stress: an increase in energy expenditure or effects of starvation? **Physiological**

Biochemical Zoology, Chicago, EUA, v. 73, n. 1, 2000. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/316717>. Acesso em: 14 out 2020.

DE CARVALHO GOMES, Levy; LIMA, Carlos Alberto Rego Monteiro Araujo; ROUBACH, Rodrigo; URBINATI, Elisabeth Criscuolo. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 38, n. 2, 2003. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/6572>. Acesso em: 28 out 2020.

DIAS, Joel Artur Rodrigues; ABE, Higo Andrade; SOUSA, Natalino Costa; RAMOS, Fabricio Menezes; CORDEIRO, Carlos Alberto Martins; FUJIMOTO, Rodrigo Yudi. Uso do sal comum (NaCl) e densidade de estocagem durante a larvicultura de *Betta splendens*. **Boletim do Instituto de Pesca**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 3, 2018. Disponível em: <https://209.124.77.230/index.php/bip/article/view/1171>. Acesso em: 03 nov 2020.

EVANS, Tyler G; KÜLTZ, Dietmar. The cellular stress response in fish exposed to salinity fluctuations. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Integrative Physiology**, EUA, v. 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jez.2350>. Acesso em: 01 out 2020.

FASHINA-BOMBATA, Hakeen Agboola; BUSARI, Ansi Nani. Influence of salinity on the developmental stages of African catfish *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840). **Aquaculture**, EUA, v. 224, n. 1-4, 2003. Disponível em: https://www.science-direct.com/science/article/pii/S0044848603002734?casa_token=wBX6bybQcjYAAAAA:5BZrVbRAZEhH5mPmoYI5mVniwseOryNWgdKkE93K0XY_RApynUKt7fllvKp7bTzwoHMUnzSY. Acesso em: 18 set 2020.

GARCIA, Lucianode Oliveira; BECKER, Alexssandro Gomes; COPATTI, Carlos Emanuel; BALDISSEROTTO, Bernardo; NETO, João Radünz. Salt in the food and water as a supportive therapy for *Ichthyophthirius multifiliis* infestation on silver catfish, *Rhamdia quelen*, fingerlings. **Journal of the World Aquaculture Society**, EUA, v. 38, n. 1, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1749-7345.2006.00068.x>. Acesso em: 15 set 2020.

GOSNER, Kenneth Lee. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, EUA, v. 16, n. 3, 1960. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3890061>. Acesso em: 01 ago 2020.

HAYASHI, Carmino; SOARES, Claudemir Martins; GALDIOLI, Eliana Maria; FURUYA, Valéria Rossetto Barriviera; BOSCOLO, Wilson Rogério. Desenvolvimento de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw, 1802) cultivados em diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 33, n. 1, 2004. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982004000100003&script=sci_arttext. Acesso em: 02 nov 2020.

JOMORI, Rosangela Kiyoto; LUZ, Ronald Kennedy; TAKATA, Rodrigo; FABREGAT, Thiago El Hadi Perez; PORTELLA, Maria Célia. Água levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes neotropicais. **Pesquisa agropecuária**

brasileira, Brasília, v. 48, n. 8, 2013. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/11207>. Acesso em: 19 out 2020.

KRASTEVA, Vladimir; YANKOVA, Mika; HUBENOVA, Tiulste. Salinity tolerance of European catfish (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758) larvae. **Zhivotnov'dni Nauki/Bulgarian Journal of Animal Husbandry**, Nauki/Bulgaria, v. 57, n. 3, 2020. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20203435959>. Acesso em: 20 out 2020.

KUBITZA, Fernando. A versatilidade do sal na piscicultura. **Panorama da aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 103, 2007. Disponível em: <http://www.acquaimagem.com.br/aquagenetica/site/wpcontent/usosalpiscicultura.pdf>. Acesso em: 30 out 2020.

LUZ, Ronald Kennedy; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, Rosa Maria; DE PEDRO, Nunes; DELGADO, Maria José. Growth, food intake regulation and metabolic adaptations in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to different salinities. **Aquaculture**, EUA, v. 276, n. 1-4, 2008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848608000641?casa_token=mTprmucbHYMAAAA:dTynvUWyMCOTJjSKkU5ICW9glzeqoqQMRS9b4s8oZCutVdRLB9D8JwK97UwWWgx83LBSEjtsRLc. Acesso em: 25 out 2020.

LUZ, Ronald Kennedy; SANTOS, José Claudio Epaminondas. Densidade de estocagem e salinidade da água na larvicultura do pacamã. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 43, n. 7, 2008. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/44>. Acesso em: 28 out 2020.

MOREIRA, Diogo Magalhães da Veiga; FERREIRA, Pollyana de Moraes França; ZUANON, Jenner Alexandre Sampaio; SALARO, Ana Lúcia; ALVES, Leandro Moreno de Oliveira; DIAS, Devlynn Coelho. Tolerância aguda e subcrônica de juvenis de acará-bandeira a salinidade da água. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, Maranhão, v. 6, n. 1, 2011. Disponível em: <https://ppg.revistas.uema.br/index.php/REPESCA/article/view/370>. Acesso em: 17 out 2020.

OECD. Test No. 203: Fish Acute Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. **OECD Publishing**, Paris, v. 2, 2019. Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-203-fish-acute-toxicitytest9789264069961-en>. Acesso em: 19 out 2020.

OKAMOTO, Takuma; KUROKAWA, Tadahide; GEN, Koichiro; MURASHITA, Koji; NOMURA, Kazuharu; KIM, Shin-Kwon; MATSUBARA, Hajime; OHTA, Hiromi; TANAKA, Hideki Influence of salinity on morphological deformities in cultured larvae of Japanese eel, *Anguilla japonica*, at completion of yolk resorption. **Aquaculture**, EUA, v. 293, n. 1-2, 2009. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848609003366asa_token=LwgzrhK4IAsAAAAA:YuKlu3VxOg_krZHjLyn7Ti_Y0KLeIT43ZSsr6DmyFKURx0USuVpZyMdmRoUchVJngxKHAzXe4. Acesso em: 26 out 2020.

SALARO, Ana Lúcia; CAMPELO, Daniel Abreu Vasconcelos; PONTES, Marcelo Duarte; TAVARES, Mateus Moraes; ZUANON, Jenner Alexandre Sampaio; LUZ,

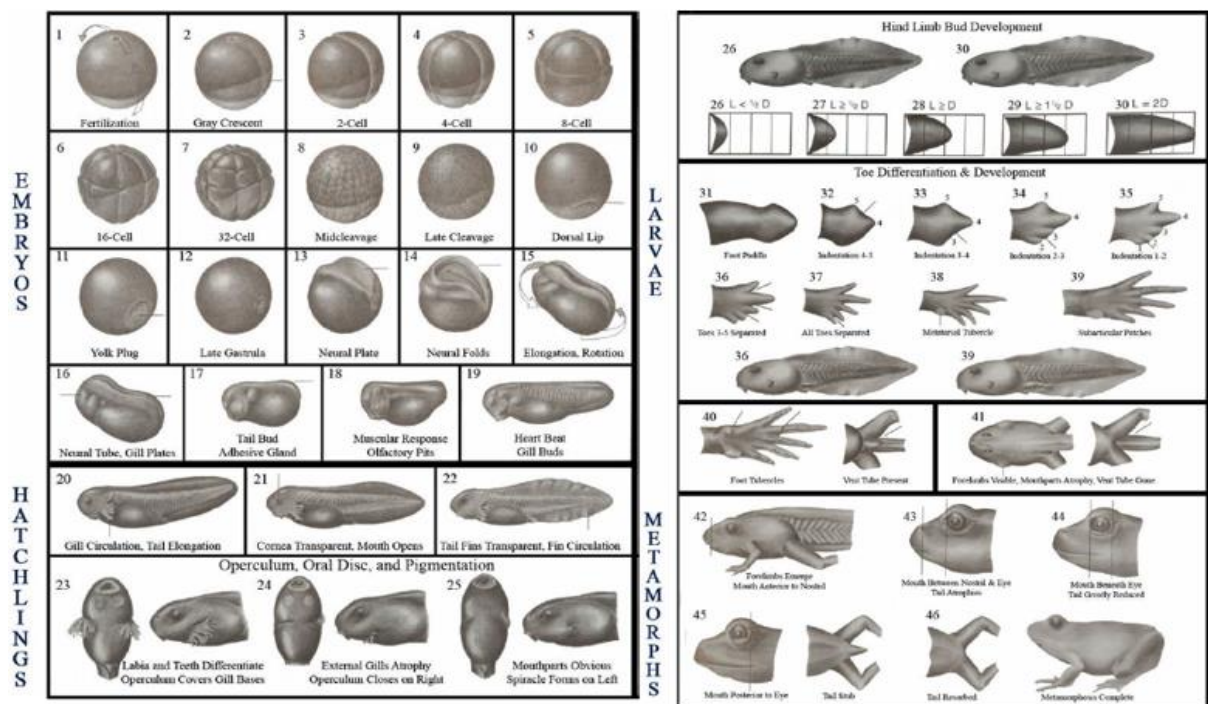
Ronald Kennedy. Saline water for juvenile giant trahira during feed training. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 41, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151635982012000600004&nrm=iso. Acesso em: 20 out 2020.

SEIXAS FILHO, José Teixeira; PEREIRA, Marcelo Maia; MELLO, Sílvia Conceição Reis Pereira. **Manual de ranicultura para o produtor**. Rio de Janeiro: FIPERJ, 2017.

SIPAÚBA-TAVARES, Lúcia Helena; MORAIS, Joceli Cristina Leite; DE STÉFANI, Marta Verardino. Comportamento alimentar e qualidade da água em tanques de criação de girinos de rã-touro *Lithobates catesbeianus*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 30, n. 1, 2008. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/3031/303126491013.pdf>. Acesso em: 28 out 2020.

ZUANON, Jenner Alexander Sampaio; SALARO, Ana Lúcia; VERAS, Galileu Crovatto; TAVARES, Mateus Moraes; CHAVES, Willian. Tolerância aguda e crônica de adultos de beta, *Betta splendens*, à salinidade da água. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 38, n. 11, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982009001100005In g =en&nrm=iso. Acesso em: 21 out 2020.

ANEXO I – TABELA DE GOSNER



Fonte: Gosner (1960).

ATIVIDADE BIOLÓGICA DE MALEIMIDAS CONTRA *Aeromonas* spp. ISOLADAS DE TAMBAQUI E CITOTOXICIDADE *IN SILICO*

Claire Juliana Francisco¹; Silvia Umeda Gallani²; Agnes Cecheto Trindade³; Edson Conrado Luz⁴; Renata Coelho Cavalcanti⁵; Gustavo Moraes Ramos Valladão⁶; Guilherme Campos Tavares⁷; Adjaci Fernandes Uchoa⁸.

RESUMO

Bactérias destacam-se por causarem grandes perdas dentro da piscicultura (e.g. *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas jandaei*), e a síntese de novas moléculas com potencial para o controle das bacterioses é uma temática promissora dentro da aquicultura. Desta forma, moléculas denominadas maleimidas foram testadas contra bactérias isoladas de tambaqui *Colossoma macropomum* provenientes de pisciculturas do interior do estado do Amazonas. A técnica MALDI TOF identificou *A. hydrophyla* e *A. jandaei*. 100% das moléculas testadas apresentaram MIC=MBC. Apenas 2 moléculas apresentaram baixo risco de toxicidade teórico. O presente estudo, confirma o potencial das maleimidas para uso veterinário em aquicultura.

Palavras-chave: Imidas. Antibacteriana. Tratamento. Piscicultura.

ABSTRACT

Bacteria stand out for causing great losses within fish farming (e.g. *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas jandaei*), and the synthesis of new molecules with potential for treatment becomes essential. Maleimides were tested on *Colossoma macropomum* bacteria from fish farms in the interior of the state of Amazonas. MALDI TOF, identified *A. hydrophyla* and *A. jandaei*. 100% of the tested molecules had MIC=MBC. Only 2 molecules had a low risk of theoretical toxicity. The present study confirms the potential of maleimides for veterinary use in aquaculture.

Key words: Imides. Antibacterial. Treatment. Fish-farming.

¹Doutora em Biologia pela Universidade do Porto. MBR Technology LTDA

<http://lattes.cnpq.br/8864707866294630>. aquicultura2005@hotmail.com.

²Doutora em Aquicultura pelo Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista. Professora do Departamento de Microbiologia Aplicada a Organismos Aquáticos da Universidade Nilton Lins. <http://lattes.cnpq.br/7315530238565999>. silviaugallani@gmail.com.

³Bacharel em Química pela Universidade do Vale do Paraíba. Mestranda em Engenharia Biomédica Universidade Anhembi Morumbi. <http://lattes.cnpq.br/8546885089800450>. acecheto@gmail.com.

⁴Bacharel em Química pela Faculdade São Bernardo dos Campos. Mestrando em Engenharia Biomédica, <http://lattes.cnpq.br/6621036244161640>. ec_luz@hotmail.com

⁵Graduanda em Medicina Veterinária pela Universidade Nilton Lins. <http://lattes.cnpq.br/0750184633285299>. rccavalcanti97@gmail.com.

⁶Doutor em Aquicultura pelo Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista. Professor do Departamento de Parasitologia e Patologia de Organismos Aquáticos da Universidade Nilton Lins. <http://lattes.cnpq.br/3388795761978632>. gmrvalladao@gmail.com.

⁷Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais. Professor do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG. <http://lattes.cnpq.br/0656314462372593>. gcamposvet@hotmail.com.

⁸Doutor em Química Orgânica pela Universidade de São Paulo. Professor no Programa Stricto Sensu Universidade Anhembi Morumbi. <http://lattes.cnpq.br/9073409107055774>. adjaci@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A aquicultura é caracterizada pela criação de organismos aquáticos em um ambiente controlado (SOFIA, 2020), sendo uma das cadeias produtivas mais importantes em todo o mundo. O mercado aquícola está em crescente desenvolvimento mundial sendo previsto atingir mais de \$ 208,9 bilhões até o ano 2025. Nos Estados Unidos, o crescimento será de 5,4% no mesmo período e na China de 4,3% nos próximos dois anos investindo em torno de \$ 9,4 bilhões em oportunidades de negócios dentro dessa área (RESEARCH e MARKETING, 2020).

Nos últimos seis anos, a produção aquícola brasileira apresentou um crescimento de 31%, e passou de 578.800 t (2014) para 758.006 t (2019). Somente a produção de peixes nativos representou 38% (288.042 t) de toda piscicultura brasileira em 2019 (ANUÁRIO PEIXE BR, 2020). No entanto, de acordo com SHIOGIRI et al., (2015), a realidade crescente da aquicultura dentro do agronegócio, possibilita maior contato dos animais com os diferentes tipos de patógenos por conta de alguns fatores: i) aumento da densidade de animais em tanques; ii) falta de conhecimentos e tecnologias de manejo alimentar, que contribuem diretamente para a má qualidade da água. Isto contribui para o surgimento de surtos de doenças causadas por parasitas, fungos e bactérias. Tais doenças trazem grandes prejuízos, tanto para a qualidade e bem-estar animal quanto para o produtor, resultando em perdas econômicas. No Amazonas essas doenças ocorrem em peixes de grande importância na piscicultura, dentre eles está o tambaqui *Colossoma macropomum* um dos peixes mais consumidos na região norte do país. Tal espécie possui alta demanda na piscicultura por ter uma conversão alimentar satisfatória, fácil adaptabilidade ao ambiente e à ração artificial, além de fácil reprodução e rápido crescimento na fase larval e alevinagem.

Dentre as doenças infecciosas, as bacterioses destacam-se por causarem grandes perdas dentro da piscicultura e por terem algumas espécies consideradas como potencialmente zoonóticas. Bactérias do gênero *Aeromonas* são gram-negativas, estão presentes na água, e podem causar doenças em animais como mamíferos e anfíbios. Essas bactérias possuem uma vasta cadeia de fatores de virulência, o que permite criar resistência dentro do sistema de defesa do organismo do hospedeiro e, conseqüentemente levando-o a morte (RODRIGUES et al., 2019).

Na produção, a resistência antibacteriana está relacionada a transmissão vertical de plasmídeos (GUGLIELMETTI et al., 2009). Por esse motivo dentro do

contexto atual, e visto que a resistência microbiana é desenvolvida há décadas, é urgente a descoberta de novos compostos para criação de alternativas de medicação eficazes no controle dessas doenças (SILVA e AQUINO, 2018) e para isso, a síntese química tem contribuído com essas descobertas. Para aperfeiçoar o desenvolvimento de substâncias biologicamente ativas, dispõem-se processos químicos que acarretam em modificações moleculares. Tais modificações designam princípios ativos de novos fármacos. Essa construção de moléculas orgânicas, envolve cadeias lineares e cíclicas, assim como a presença de outros elementos (heteroátomos), onde a junção, implica em estruturas heterocíclicas, com a presença de um ou mais átomos diferentes do carbono. A partir dessa síntese, pode-se criar as chamadas imidas cíclicas, estruturas de grande importância para o desenvolvimento de novos fármacos por ser de fácil obtenção, versatilidade e de menor custo. As imidas cíclicas e suas subclasses apresentam efeitos biológicos de grande importância, a qual citamos as maleimidas, como o principal representante nas atividades antifúngica, antibacteriana e inseticida (CECHINEL et al., 2003).

Desenvolvimento de novos fármacos

A necessidade do desenvolvimento de novos fármacos com grande potencial terapêutico intensificou o processo de geração de novos conhecimentos científicos e tecnológicos nos setores de pesquisa, a fim de se obter resultados excelentes e relevantes experimentalmente, determinando uma notável elevação da quantidade e qualidade dos medicamentos disponíveis no mercado farmacêutico, onde a maioria é de origem natural (BARREIRO et al., 2005; 2009). Assim síntese orgânica tem sido um grande aliado junto à comunidade científica, ocasionando um crescimento significativo de novas moléculas, com resultados promissores nos efeitos biológicos e no avanço dos estudos pré-clínicos e clínicos, dentre as quais destacam-se as imidas cíclicas (CECHINEL et al., 2003).

Síntese

O desenvolvimento de substâncias biologicamente ativas, utiliza-se de processos químicos que implicam em modificações moleculares, dependendo dos grupos reativos para que essas modificações sejam realizadas. Inicialmente, procura-se inserir grupos que apresentem alterações na hidrofobicidade da substância ou em grupos doadores/ e ou aceptores de elétrons que possibilitem a aplicação de algum

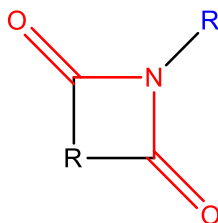
método qualitativo e quantitativo correlacionado com a estrutura química e a atividade biológica (CECHINEL et al., 1998), possibilitando a verificação da interação entre a estrutura química e a atividade biológica (QSAR) ou da estrutura química e alguma propriedade físico-química (QSPR) e os efeitos que podem causar em uma substância (ligante) durante essa interação com o receptor biológico, justificando os fatores principais dessa interação (ARROIO et al., 2010).

A substituição de um átomo de hidrogênio por um determinado substituinte (grupo alquila, grupo nitro, grupo ciano, grupo carboxilato, halogênio etc.) pode modificar profundamente a potência, duração e ainda a natureza do efeito farmacológico da molécula. Os estudos de correlação estrutura-atividade, fundamentados no efeito substituinte em um determinado anel aromático, são muito comuns na química medicinal, uma vez que 50% dos fármacos ou substâncias bioativas possuem este tipo de anel. As introduções de substituintes produzem modificações que podem atingir as propriedades físico-químicas da molécula, como a hidrofobicidade, a densidade eletrônica e a conformação estrutural, podendo orientar para novas sínteses. Um planejamento racional de fármacos permite estabelecer um grupo de substâncias-teste para a realização de uma análise quantitativa da relação estrutura-atividade (CECHINEL et al., 2001).

Imidas cíclicas

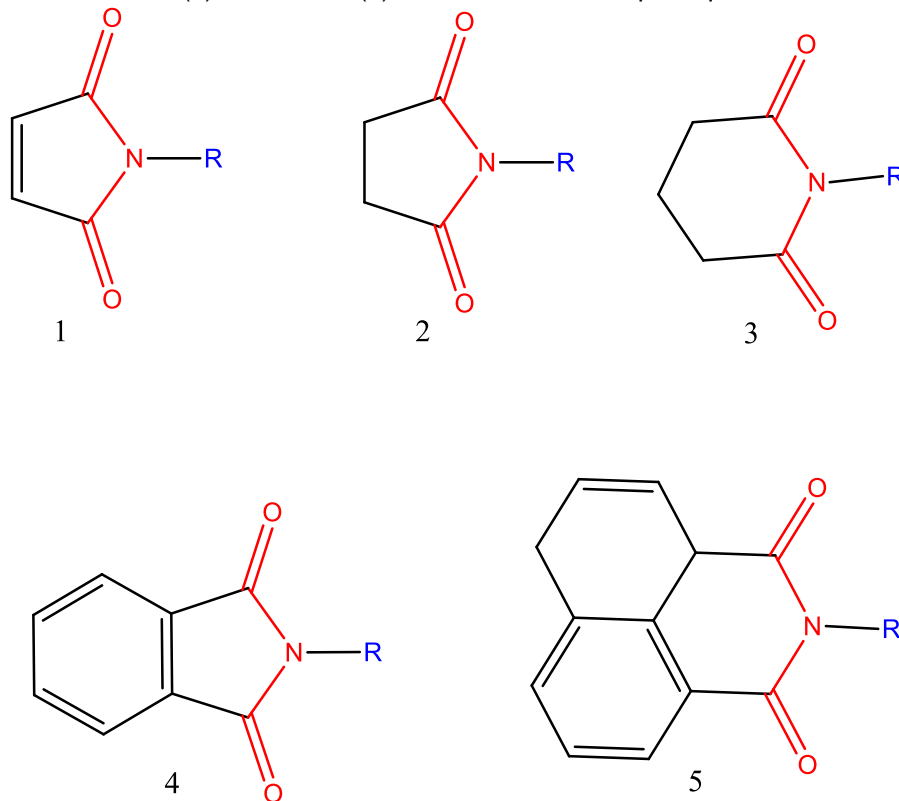
São compostos que apresentam o grupo $-\text{CO}-\text{N}(\text{R})$ (Fig. 1), onde R pode ser um átomo de hidrogênio, um grupo alquila ou arila ligados a uma cadeia carbônica. Podem ser divididas cinco classes: i) Maleimidas; ii) Succinimidas; iii) Glutarimidas; iv) Ftalimidas; v) Naftalimidas (Fig. 2), e seus derivados (CECHINEL et al., 2003).

Figura 1: Estrutura Geral das Imidas Cíclicas



Fonte: Elaborado pelos autores

Figura 2: Diferentes subclasses de Imidas Cíclicas: (1) Maleimidas, (2) Succinimidas, (3) Glutarimidas, (4) Ftalimidas, (5) Naftalimidas, R: Grupo Alquil, Aril e outros



Fonte: Elaborado pelos autores

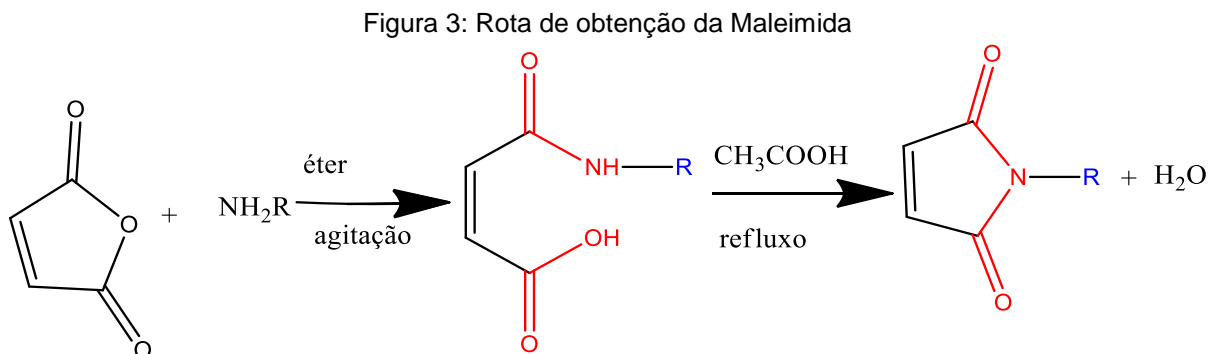
Atividade antimicrobiana

Maleimidas, citraconimidas, 3-piperidinosuccinimidas, 3-morfolinosuccinimidas e seus derivados sulfonados já foram registradas há alguns anos com atividade contra bactérias (CORREA, 1997). A N-(p-N',N'-dimetilsulfamoilfenil)-3-morfolinosuccinimida e a N-(p-N'-fenilsulfamoilbenzil) citraconimida foram avaliadas com diferentes fungos e apresentaram uma ativação principalmente contra *Candida albicans*, *Candida neoformans* e *Microsporium gypseum* na concentração de 6,3µg/ml e *Aspergillus flavus*, *Microsporium canis* e *Aspergillus parasiticus* na concentração de 25 µg/ml. Em geral, observou-se que, com a introdução do grupo sulfamoil (formação da sulfonamida), têm-se um aumento na atividade biológica e que, com a presença de grupos eletrodadores (metoxi ou dimetilamino), têm-se um aumento da atividade antimicrobiana, por facilitar a interação fármaco-microrganismo, pois a estrutura molecular da superfície da célula é muito polar (RANGE et al., 2016). Entretanto, algumas moléculas podem sofrer transformações "in vivo", à derivados ativos (e.g. sulfonamidas), as quais possuem ação bacteriostática (BRUNTON et al., 2019) sendo considerada um pró-fármaco. Entretanto, com relação as imidas cíclicas e suas

subclasses, a qual apresenta efeitos biológicos de grande importância, citamos a maleimida como o principal representante nas atividades biológicas (CECHINEL et al., 2003).

Obtenção das maleimidias

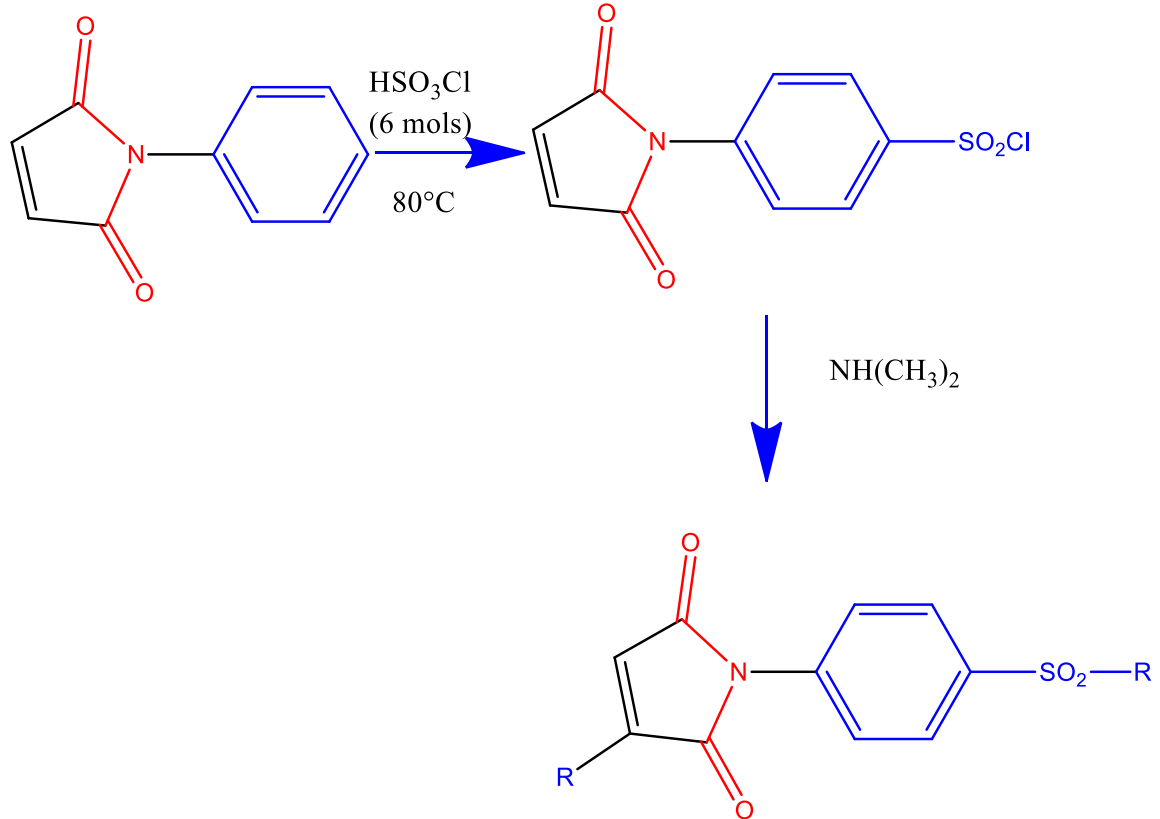
Há muitas metodologias de obtenção das maleimidias, mas o método mais apropriado e versátil é a síntese destes compostos representados (Fig. 3) (HARGREAVES, 1970). O anidrido maleico reage com a amina apropriada para a transformação do respectivo ácido maleâmico, que é ciclizado facilmente usando agentes desidratantes de fácil acesso, por exemplo, o ácido acético, anidrido acético, acetato de sódio anidro, entre outros, sob aquecimento, permitindo o uso de diferentes aminas, como as anilinas substituídas, obtendo-se derivados maleimídicos N-substituídos com bons rendimentos (CECHINEL et al., 2003).



Fonte: Elaborado pelos autores

A N-fenilmaleimida, como outros substratos, tem um grande potencial farmacológico (CECHINEL; VALDIR, 1995). A N-fenilmaleimida reage com o ácido clorossulfônico em aquecimento, obtendo-se o cloreto de sulfonila e através deste composto obtêm-se diferentes sulfonamidas através de reações com aminas apropriadas, que são introduzidas na dupla ligação imídica (Fig. 4).

Figura 4: Composto formado através da adição do dimetilamina e substituição nucleófila do cloro



Fonte: Elaborado pelos autores

Potencial farmacológico das maleimidas

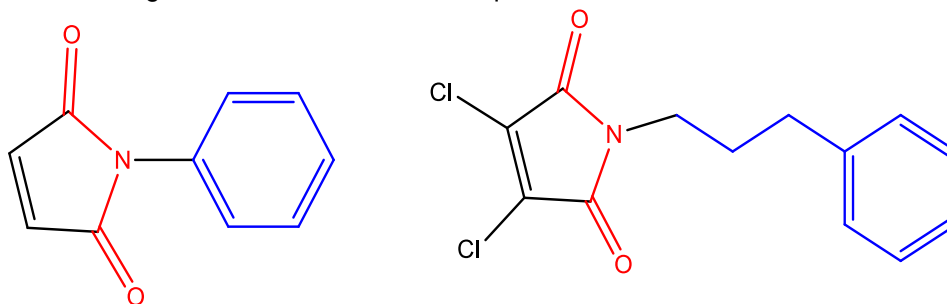
Durante muitos anos, Hargreaves et al., (1970) estudou os efeitos biológicos das maleimidas, as quais destacamos os efeitos antifúngico, antibacteriano e inseticida. Verificou-se que as maleimidas tem uma atividade antifúngica de maior efetividade em relação as succinimidas, comprovando a importância da dupla ligação imídica (NUNES, 1986).

As N-alquilarilmaleimidas apresentaram atividades contra algumas bactérias patogênicas aos seres humanos, como a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumonia*. Também apresentaram atividade contra fungos leveduriformes e miscelais, causadores de micoses em humanos, como *Microsporium canis*, *Candida albicans*, *Penicillium* etc. (CECHINEL; VALDIR, 1995; LIMA et al., 1999), enquanto as N-alquilarilmaleimidas substituídas apresentaram pouca variação nas atividades em relação as não substituídas, sugerindo que fatores estéricos foram os principais interferentes.

Os N-arilmaleimidas e N-alquilfenil-3; 4-dicloromaleimidas (Fig. 5) foram testados contra diferentes microrganismos e observou-se que alguns compostos

apresentaram resultados inibitórios maior que o cetoconazol. Com a introdução de dois átomos de cloro na dupla ligação do anel imídico, não apresentou um aumento significativo do efeito inibitório da atividade antifúngica, mas um importante fator relacionado a esta atividade é a distância entre o anel aromático e o anel imídico destes compostos (LIMA et al, 1999).

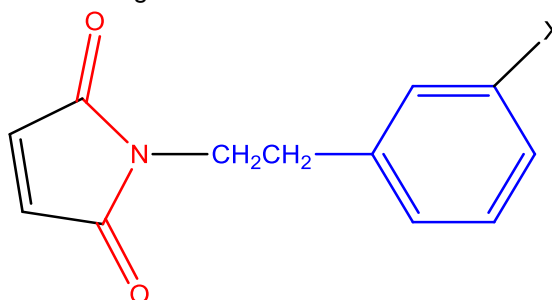
Figura 5: N-arilmaleimida, N-alkilfenil-3, 4-Dicloromaleimida



Fonte: Elaborado pelos autores

Foram também testados a atividade analgésica e antipasmódica em diversos modelos “*in vivo*” e “*in vitro*” com resultados satisfatórios (CECHINEL; VALDIR, 1995). Verificou-se que o aumento da atividade analgésica pode ser explicado por causa da introdução de elétrons doadores no anel aromático do N-fenetilmaleimida (Fig. 6), os quais citamos 4-OCH₃, 3,4-(OCH₃)₂ e 4-CH. A diminuição desta atividade quando se introduz o 4-Cl, um elétron-retirador, observando-se que os parâmetros eletrônicos devem estar envolvidos na atividade e que os elétrons-doadores aumentam a atividade analgésica (CECHINEL et al., 2003).

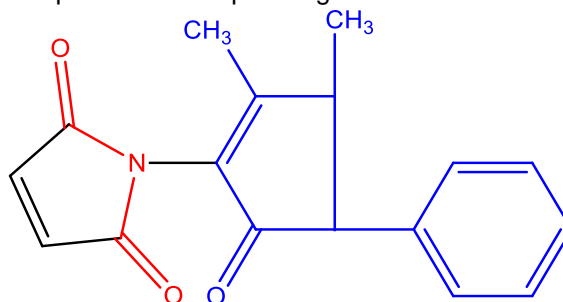
Figura 6: N-fenetilmaleimidas



Fonte: Elaborado pelos autores

Experimentos realizados contendo a antipirina ligada ao anel maleimídico resultou num aumento da atividade analgésico em 50 vezes maior do que em certos fármacos. Porém, todos os animais foram a óbito, sugerindo uma alta toxicidade do composto (Fig. 7) (CECHINEL et al., 1998).

Figura 7: Composto com Antipirina ligado direto ao anel maleimídico



Fonte: Elaborado pelos autores

No Brasil há somente duas moléculas autorizadas para uso veterinário para tratamento de bacterioses em peixes. Assim, testar novas moléculas sintetizadas a partir da reação de imidas cíclicas da subclasse maleimida para *Aeromonas* spp. causadoras de surtos de mortalidade em tambaqui cultivado em piscicultura, torna-se necessário como alternativa aos fármacos já existentes no mercado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Localização

As maleimidas foram sintetizadas no laboratório da Faculdade de Química da Universidade de São Paulo – USP, São Paulo. As cepas bacterianas foram identificadas no Laboratório de Doenças de Animais Aquáticos, da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Minas Gerais. O estudo para atividade biológica foi desenvolvido nos Laboratórios de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos do Departamento de Pesquisa em Aquicultura da Universidade Nilton Lins – UNL, Manaus.

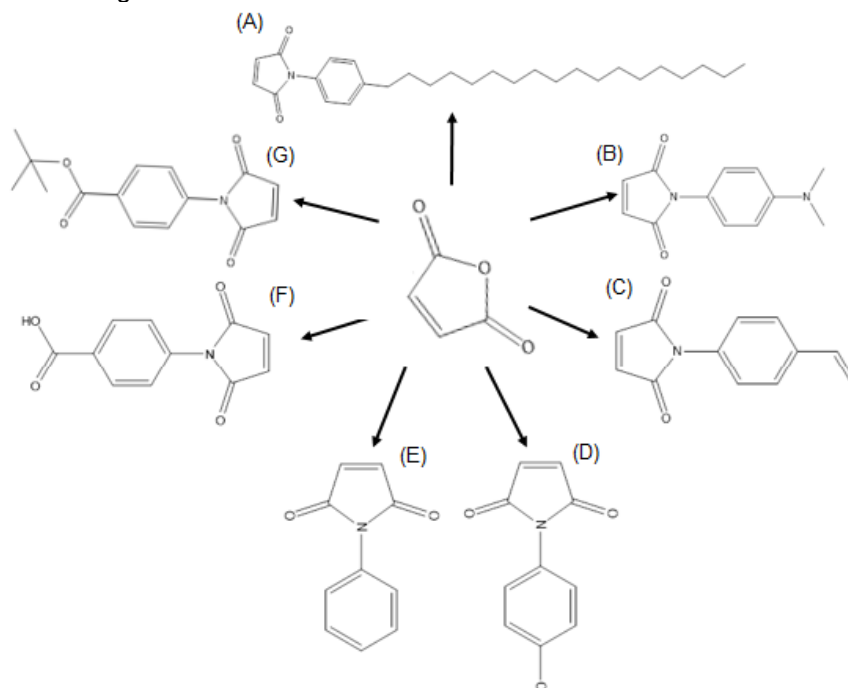
Síntese de maleimidas

Em um erlenmeyer, foram dissolvidos 2 Mols de anidrido maleico em éter etílico e num segundo erlenmeyer foram dissolvidos 1 Mol da amina correspondente, ambos sob agitação por 30 minutos e em temperatura ambiente. Verteu-se o primeiro erlenmeyer ao segundo e formou-se um precipitado, o qual foi filtrado e lavado com porções de éter etílico e eliminado em estufa com circulação de ar à 50°C por 40 minutos. O produto foi submetido a ciclização em solução de acetato de sódio/anidrido acético, aquecido a 70° C com agitação, pelo período de 6 horas. A reação foi vertida numa mistura de água/gelo, neutralizada com hidróxido de amônio até atingir pH básico e extraídos em clorofórmio. O solvente eliminado através do equipamento

rotaevaporador. Os componentes foram purificados em uma coluna cromatográfica com sílica, utilizando clorofórmio como eluente e foi sendo monitorado por cromatografia de camada delgada. Posteriormente, caracterizadas por RMN ^1H e ^{13}C e por HPLC- massa de alta resolução por infusão direta.

Na Fig. (8) são apresentadas as estruturas das moléculas utilizadas no presente estudo: Molécula (A): 1-(4-octadecylphenyl) 1-H-pyrrole – 2,5- dione, com massa exata de 425,32938; Molécula (B): 1- (dimethylamino) phenyl) – 1H – pyrrole – 2,5 – dione, com massa exata de 216,08988; Molécula (C): 1-(4 – vinylphenyl) – 1H – pyrrole – 2,5 – dione, com massa exata de 199,0633; Molécula (D): 1 - (4 – chlorophenyl) – 1H pyrrole – 2,5 – dione, com massa exata de 207,00871; Molécula (E): 1 - phenyl – 1H – pyrrole – 2,5 dione, este composto teve 74% de rendimento e massa exata de 174,0582 para o íon molecular fenil-maleimida e o pico base de 206,0827 é referente a abertura do anel imida e a adição do metanol durante o processo de análise. A fenil-maleimida foi sintetizada como padrão de referência para as outras moléculas sintetizadas para utilização no presente estudo, por se tratar de uma molécula com atividade biológica já comprovada em outros estudos (PRADO et al., 2004); Molécula (F): 4 – (2,5 – dihydro -1H – pyrrol -1-yl) benzoic acid, com massa exata de 217,03751; Molécula (G): *tert* – butyl 4 (2,5 – dioxo – 2,5 – dihydro – 1H – pyrrol – 1 – yl) benzoate, com massa exata de 273,10011.

Figura 8: Estruturas das moléculas utilizadas no estudo



Fonte: Elaborado pelos autores

Caracterização molecular das bactérias

Cepas de *Aeromonas hydrophila* (AM-AE10) e *A. jandaei* (AM-AE02) isoladas durante surto de mortalidade em pisciculturas localizadas no interior de Manaus, foram identificadas pela espectrometria de massa MALDI-TOF. Esta ferramenta física permite a identificação de proteínas ribossomais de uma determinada espécie bacteriana através da medida da relação massa/carga (m/z) de espécies ionizadas em fase gasosa. Além disso, devido a limitada performance do MALDI-TOF para a identificação de isolados de *Aeromonas* oriundos de peixes a nível de espécie, a cepa que apresentou score inferior a 2.300, foi submetida ao sequenciamento do gene housekeeping *rpoD*, aumentando a confiabilidade taxonômica do isolado utilizado.

Atividade antibacteriana

As culturas foram mantidas em Glicerol à -6 °C, reativadas em meio Ágar TSA em 28°C, durante 24 horas. Primeiramente, preparou-se uma suspensão de cada estirpe em estudo a partir de 2 a 3 colônias puras para 20 mL de PBS esterilizado, de forma a alcançar um padrão de turvação, com uso de espectrofotômetro, absorvância entre 0,08 e 0,130 no comprimento de onda de 600 nm (BALOUIRI et al., 2016).

A atividade antibacteriana das maleimidias (n=7), foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo, utilizando microplacas de 96 poços, com 180 µL do meio Müller Hinton II® (Sigma Aldrich) ajustado em relação a concentração de cálcio e magnésio. Para cada teste foram utilizados 20 µL de cada molécula, previamente dissolvidas em 1 mL DMSO. Cada solução estoque continha 20000 µg/mL da respectiva molécula em estudo, com exceção da molécula E, a qual foi preparada com 13330µg/mL. As moléculas A e G não apresentaram boa solubilidade em DMSO.

A Concentração Mínima Inibitória (CIM) de cada composto, frente à *Aeromonas hydrophila* e *A. jandaei* foi definida como a menor concentração que promove a inibição do crescimento bacteriano. Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) das novas moléculas, foram realizadas semeaduras em placas de Petri contendo o meio de cultura Ágar Müller Hinton II® (Sigma Aldrich) a partir de todos os poços onde não houve revelação de crescimento bacteriano. Após o período de incubação de 24 horas a 28 °C, foi realizada leitura das placas, sendo a CBM correspondente à menor concentração onde não foi evidenciado crescimento bacteriano. Foram utilizados três controles: o controle de esterilidade com 200 µL de caldo MH; o controle de crescimento positivo, 200 µL de caldo MH e suspensão

bacteriana e, por fim, o controlo negativo com 200 µL de cada molécula. Para cada composto o ensaio foi realizado em triplicata.

A classificação de substâncias como agente bactericida ou bacteriostática foi definida de acordo com a razão CBM/CIM. Imidas com resultados entre 1-4 foram classificadas como bactericida e resultados ≥ 8 foram classificadas como bacteriostático (FRENCH, 2006).

Citotoxicidade *in silico*

A análise para cada *molécula* com relação a citotoxicidade *in silico*, foi efetuada no programa Osiris® (Osiris Property Explorer, Thomas Sander). Os parâmetros (MUT)=mutagênico; (TUM)=tumorigénico; (IRRI)=Irritante; (REP)=Interferência na reprodução; (PM)=peso molecular; (cLogP)=hidrofilicidade; (SOL)=solubilidade; (DL)=druglikeness e (DS)= drugscore foram calculados. As cores verde, amarelo e vermelho correspondem a baixo risco, médio risco e alto risco, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Identificação dos isolados bacterianos

Na análise de MALDI-TOF, a cepa AM-AE10 foi identificada como *A. hydrophila* (score 2.599) enquanto que a cepa AM-AE02 foi identificada como *A. jandaei* (score 2.152). Após o sequenciamento do gene *rpoD* do isolado AM-AE02, foi obtida uma sequência consenso de 724 pb, posteriormente submetida a ferramenta blastn do banco de dados Genbank, confirmando o isolado como *A. jandaei* (cobertura de 99% e identidade de 98,9% com o a cepa *Aeromonas jandaei* strain 3348 – accession number CP043321.1).

Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Concentração Mínima Bactericida (CBM)

Todas as moléculas apresentaram CIM=CBM, com efeito bactericida e valores das concentrações variando para cada molécula (Tabela 1).

Tabela 1- Valores de Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Concentração Mínima Bactericida (CBM) para *Aeromonas jandaei* e *A. hydrophila*;

Molécula	<i>A. jandaei</i> (µg/mL)			<i>A. hydrophila</i> (µg/mL)		
	CIM	CBM	CBM/CIM	CIM	CBM	CBM/CIM
A	>1000	-	-	>1000	-	-

B	62,5	62,5	1	125	125	1
C	62,5	62,5	1	62,5	62,5	1
D	62,5	62,5	1	250	250	1
E	166,25	166,25	1	166,25	166,25	1
F	500	500	1	500	500	1
G	>1000	-	-	>1000	-	-

Fonte: Elaborado pelos autores

Todos os compostos obtiveram um valor de concentração para CBM igual ao CIM, ou seja, as maleimidas causaram morte bacteriana atuando como bactericidas e não como bacteriostáticas (valor da razão CBM/CIM = 1). As moléculas A e G foram avaliadas, entretanto a CIM e CBM foi maior que 2000µg/ml, a provável justificativa para os maiores valores de CIM e CBM para estas moléculas se deve em decorrência da pouca solubilização com o DMSO, o que pode ter afetado negativamente a ação sobre as soluções bacterianas.

Com exceção das moléculas B e D, as demais moléculas, C, E e F apresentaram resultado CIM igual para ambas as espécies de *Aeromonas*, confirmando que as amostras sofrem, igualmente, lise celular e isto ocorre por que as moléculas avaliadas contêm um anel imida e a estrutura geral -CO-N (R) -CO-, caracterizando-as como hidrofóbicas e neutras e, portanto, podem atravessar membranas biológicas. Nota-se que os valores foram similares entre as diferentes espécies de *Aeromonas* quando testadas com a mesma imida. As moléculas têm um anel imida. Isto indica que independente da espécie, a imida deve atuar de forma similar causando desestruturação da parede celular da bactéria. No entanto, em se tratando de diferentes gêneros de bactérias, os resultados podem ser significativamente alterados, pois a composição da parede celular pode ser significativamente diferente.

Prado et al., (2004), avaliou a atividade biológica de derivados de imidas cíclicas em cepas de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* e *Escherichia coli* comprovando a melhor eficácia da subclasse maleimidas na inibição do crescimento das bactérias no estudo. Recentemente, Jafari et al., (2017) investigou a atividade antimicrobiana da ftalimida, derivada de benzilamina, e certificou que, este fármaco derivado, exibiu notável atividade antimicrobiana contra *E. coli*, já que 16 µg/mL foram suficientes para inibir o agente microbiano. Uma dose bem maior de 512 µg/mL foi necessário para inibir *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Importante referir que no presente estudo 57,14% das moléculas, apresentaram valores entre 62,5 – 250 µg/mL. Nos últimos anos, a descoberta de

produtos químicos para o controle de patógenos tem demandado esforço intenso de pesquisadores, principalmente buscando fármacos eficazes, com propriedades toxicológicas e ambientais favoráveis para o controle seletivo de patógenos de peixes. Neste aspecto, os derivados de imidas cíclicas têm se mostrado fármacos em potencial, e de acordo com Lamberth (2019) isso ocorre porque essas moléculas aliam a potente atividade biológica da família dos heterocíclicos, bem como funções do grupo carboxila.

As imidas cíclicas possuem propriedades biológicas valiosas, como atividade citotóxica, antiinflamatória, antibacteriana e antifúngica (JAFARI et al., 2017). Porém, como o estudo destas moléculas é inédito, não se sabe qual o mecanismo de ação do fármaco (por exemplo, lise da parede celular, inibição da síntese protéica, inibição na síntese do ácido fólico), que permite a destruição dos agentes com potencial patogênico. Hwang et al., (2004) relata o modo de ação de um derivado de imida usado como herbicida com a inibição da biossíntese de clorofila. Recentemente, Luzzio (2019) relatou que o modo de ação de alguns derivados de imidas é baseado na interferência da via de transdução de sinal que regula a adaptação osmótica, e este tem sido o modo de ação mais relatado até o momento. Além disso, o autor afirma que sua ação não se restringe aos microrganismos, pois as imidas possuem modo de ação imunorregulatório, que permite redução dos níveis excessivos de TNF- α , o que aumenta ainda mais o potencial de aplicabilidade das imidas na aquicultura. De qualquer forma, independentemente do modo de ação destes fármacos, devido ao fato da lesão causada no agente ser irreversível (bactericida), a aplicação das moléculas nos permite maior segurança no que diz respeito ao controle do patógeno.

As moléculas A e G foram avaliadas, entretanto, não obtivemos resultados na CIM pois elas não foram passíveis de dissolução em DMSO. Como a dissolução do fármaco é um fator imprescindível para sua aplicabilidade, os fármacos derivados dessas duas moléculas não teriam potencial para uso na aquicultura comprovado neste estudo. Contudo, de acordo com Jafari et al., (2017), sua hidrofobicidade e estruturas neutras permitem o fácil atravessamento por membranas biológicas. Por isso, esses fármacos não devem ser desconsiderados, mas novos métodos de dissolução devem ser investigados.

Avaliação da citotoxicidade

No desenvolvimento de novas moléculas é importante que uma atividade antibacteriana promissora não confira toxicidade para as células do hospedeiro. Muitos dos compostos que se apresentam inicialmente como promissores acabam por apresentar citotoxicidade em células do hospedeiro, não prosseguindo para avaliação *in vivo*. Assim, no presente trabalho foi avaliada *in silico*, a citotoxicidade dos compostos utilizados no experimento (Tabela 2).

Na análise *in silico* realizada no programa Osiris®, apenas duas moléculas (A e F) derivadas da subclasse maleimidas apresentaram baixo risco de toxicidade teórico (representadas na cor verde), as demais moléculas (B, C, D, E e G), apresentaram alto risco, alternando em mutagênico, tumorigênico e irritante (representados na cor vermelha), sendo a molécula C, apresentando médio risco (representada na cor amarela) com relação a ser irritante. Importante referir que os fármacos utilizados como referência, entre eles, o florfenicol, apresentou alto risco de toxicidade em todos os requisitos: i) mutagênico; ii) tumorigênico; iii) irritante; iv) interferência reprodutiva (sendo representados na cor vermelha).

Os pesos moleculares foram calculados e ficaram compreendidos em 273 e 425. Os valores de cLogP indicam a probabilidade da substância ser bem absorvida, devendo ficar abaixo de 5,0 (segundo informações contidas no programa). Os valores obtidos em nosso estudo, para o cLogP (hidrofilicidade) variam de 0,23 a 8,77, portanto, a única molécula que apresentou valor acima de 5 foi a A (C₂₈H₄₃NO₂ = 8,77). A previsão de solubilidade segundo o programa Osiris® varia entre -3,06 e -2,33, sendo assim considerados bons candidatos para aspectos envolvendo absorção e biodisponibilidade. A solubilidade teórica calculada, apresentou valores compreendidos entre -6,9 e -2,07 para as moléculas (B, C, D, E e F), e a molécula G (C₁₅H₁₅NO₄) apresentou solubilidade S= -3,0. Outro parâmetro calculado foi o *DrugLikeness*, onde verificamos os valores de -30,33 a -4,49, demonstrando que todas as estruturas testadas não apresentam similaridades com as estruturas de moléculas comercializadas.

Já o parâmetro de *DrugScore*, que representa o potencial da molécula tornar-se um fármaco, variou de 0,12 a 0,48, ou seja, maiores que o florfenicol e menores que a oxitetraciclina, fármacos comerciais utilizados como referência para o teste *in silico*. Entretanto a molécula F (C₁₁H₇NO₄) apresentou valor de 0,48, ficando então, próximo de 1, valor de referência do programa.

Tabela 2- Resultados do teste *in silico*. As cores verde, amarelo e vermelho correspondem a baixo risco, médio risco e alto risco, respectivamente. Os parâmetros (MUT)=mutagênico; (TUM)=tumorigênico; (IRRI)=Irritante; (REP)=Interferência na reprodução; (PM)=peso molecular; (cLogP)=hidrofilicidade; (SOL)=solubilidade; (DL)=druglikeness e (DS)=drugscore são apresentados.

Fórmula química	Riscos de toxicidade				Farmacocinético			Drug	
	MUT	TUM	IRRI	REP	PM	cLogP	SOL	DL	DS
(A) C28H43NO2	Verde	Verde	Verde	Verde	425,0	8,77	-6,9	-24,9	0,12
(B) C12H12NO2	Vermelho	Vermelho	Verde	Verde	216,0	0,64	-2,11	-13,02	0,17
(C) C12H9NO2	Verde	Vermelho	Amarelo	Verde	199,0	1,45	-2,88	-9,86	0,22
(D) C10H6ClNO2	Verde	Verde	Vermelho	Verde	207,0	1,35	-2,81	-6,31	0,28
(E) C10H7NO2	Verde	Verde	Vermelho	Verde	173,0	0,74	-2,07	-4,49	0,29
(F) C11H7NO4	Verde	Verde	Verde	Verde	217,0	0,23	-2,09	-8,11	0,48
(G) C15H15NO4	Verde	Verde	Vermelho	Verde	273,0	1,8	-3,0	-30,33	0,27
Oxitetraciclina	Verde	Verde	Verde	Verde	460,0	2,18	-1,45	5,36	0,8
Florfenicol	Vermelho	Vermelho	Vermelho	Vermelho	357,0	0,2	-2,91	2,55	0,11

Fonte: Elaborado pelos autores

CONCLUSÃO

Os efeitos biológicos observados, no presente estudo, confirmam o potencial das maleimidazóis para uso veterinário em aquicultura, principalmente em bacterioses causadas por *Aeromonas* spp. Além disso, ressalta-se a necessidade do desenvolvimento de estudos *in vivo*, especialmente, destinados à eficácia e toxicidade de tais moléculas para os peixes e demais organismos planctônicos (e.g. copépodos, rotíferos) e requisitos para segurança alimentar humana.

REFERÊNCIAS

ARROIO, Agnaldo; HONÓRIO, Kátia M; SILVA, Albérico B. F; Propriedades Químico-Quânticas empregadas em estudo das relações estrutura-atividade. Rio de Janeiro, Química Nova, São Paulo, v.33, n.3, p. 694-699, fev. 2010.

BALOUIRI, Mounyr; SADIKI, Moulay; IBNSOUDA, Saad Koraichi. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis. Xiam, v.6, n. 2, p. 71-79, abr. 2016.

BARREIRO, Eliezer J.; FRAGA, Carlos Alberto Manssour. A questão da inovação em fármacos no Brasil: proposta de criação do programa nacional de fármacos (PORN FAR). Química Nova, São Paulo, v.28, p. 56s-63s, nov/dez. 2005. Supl.0.

BARREIRO, Eliezer J; BOLZANI, Vanderlan da S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. Química Nova, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 679-688, mai/ jun. 2009.

BRUNTON, Laurence L; HILAL-DANDAN, Randa; KNOLLMANN, Björn C. Tradução: Augusto Langeloh, Beatriz Araujo do Rosario, Carlos Henrique de Araujo Consedey, Denise Costa Rodrigues, Maria Elisabete Costa Moreira, Patricia Lydie Voeux. As Bases Farmacológicas da Terapeutica de Goodman e Gilman. 13. ed. Porto Alegre: AMGH, 2019. 1760p.

CECHINEL Filho, Valdir; CORRÊA Ricardo; YUNES, Rosendo Augsuto; NUNES, Ricardo Jose; Aspectos químicos e potencial terapêutico de imidas cíclicas: uma revisão da literatura. Química Nova, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 230-241, mar/abr. 2003.

CECHINEL Filho, Valdir; CORRÊA, Ricardo; VAZ, Zulma; CALIXTO Joao Batista; NUNES, Ricardo Jose; PINHEIRO, Tania Roseli; ANDRICOPULO, Adriano Defini; YUNES, Rosendo Augusto. Further studies on analgesic activity of cyclic imides. IL Fármaco, Pavia, v. 53, n. 1, p. 55-57, jan. 1998.

CECHINEL Filho, Valdir; YUNES, Rosendo Augusto. Estudo químico de plantas medicinais orientado para a análise biológica. Obtenção, determinação e modificação estrutural de compostos bioativos. *In*: YUNES; Rosendo Augusto, CALISTO; Joao Batista. (org.). **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna: métodos de estudo, fitoterápicos e fitofármacos, biotecnologia, patente**. Chapecó: Argos, 2001. 47-75p.

CECHINEL Filho, Valdir. Obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de produtos naturais e correlação com estrutura química e atividade farmacológica. Tese (Doutorado em Química Orgânica). Faculdade de Química de Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1995.

CORREA, Rogerio. Síntese de compostos imídicos cíclicos de interesse biológico. Tese (Mestrado em Química). Faculdade de Química de Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1997.

FRENCH, Garry L. Bactericidal agents in the treatment of MRSA infections – the potential role of daptomycin. J Antimicrob Chemother., Birmingham, v.58, n. 6, p.1107-1117, out. 2006.

GUGLIELMETTI, Elena; KORHONEN, Jenni M.; HEIKKINEN, Jouni; MORELLI, Lorenzo; WRIGHT, Atte von. Transfer of plasmid-mediated resistance to tetracycline in pathogenic bacteria from fish and aquaculture environments. FEMS Microbiol Lett., England, v. 293, n. 1, p. 28-34, abr. 2009.

HARGREAVES, Michael K; PRITCHARD, J. G.; DAVE, H. R. Cyclic carboxylic monoimides. Chem. Rev., London, v. 70, n. 4, p. 439-469, ago. 1970.

HWANG, In Taek, Hong, Kyung Sik; Choi, Jung Sup; Kim, Hyoung Rae; Jeon, Dong Ju; Cho, Kwang Yun. Protoporphyrinogen ix-oxidizing activities involved in the mode of action of a new compound N-[4-Chloro-2-Fluoro-5-{3-(2-Fluorophenyl)-5-Methyl-4,5-Dihydroisoxazol-5-Yl-Methoxy}-Phenyl]-3, 4, 5, 6-Tetrahydrophthalimide. Pesticide Biochemistry and Physiology, San Diego, v.80, n. 2, p. 123-130, ago. 2004.

JAFARI, Elham; JARAH-NAJAFABADI, Najmeh Taghi; JAHANIAN-NAJAFABADI, Ali; POORIRANI, Safoora; HASSANZADEH, Farshid; SADEGHIAN-RIZI, Sedighe. Synthesis and evaluation of antimicrobial activity of cyclic imides derived from phthalic and succinic anhydrides. *Research in pharmaceutical sciences*, Isfahan, v.12, n. 6, p. 526-534, dez. 2017.

LAMBERTH, Clemens. Synthesis and Applications of Cyclic Imides in Agrochemistry. *In: LUZZIO, Frederick A. (org.). Imides: Medicinal, Agricultural, Synthetic Applications and Natural Products Chemistry*. 1. ed. Cambridge: Elsevier, 2019. cap. 8, p. 335-352.

LIMA, Edeltrudes de Oliveira; QUEIROZ Emerson Ferreira; ANDRICOPULO, Adriano Defini; NUNES Ricardo Jose; YUNES, Rosendo Augusto; CORRÊA, Ricardo; CECHINEL Filho, Valdir. Evaluation of antifungal activity of N-arylmaleimides and N-phenylalkyl-3,4-dichloromaleimides. *Bol. Soc. Chil. Quim.*, Concepción, v. 44, n. 2, p. 185-189, jun. 1999.

LUZZIO, Frederick A. Talidomida e Análogos. *In: LUZZIO, Frederick A. Imides: Medicinal, Agricultural, Synthetic Applications and Natural Products Chemistry*. 1. ed. Cambridge: Elsevier, 2019. cap. 10, p. 367-429.

NUNES, Ricardo Jose. The chemistry and biological activity of cyclic imidobenzene sulphonyl derivatives. Tese. (Doutorado em Química). Hatfield Polytechnic, University of Hertfordshire, Inglaterra, 1986.

PEIXE BR - Associação Brasileira de Piscicultura. Anuário 2020. São Paulo: PEIXE BR, 2019. 136 p. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2020/>. Acesso em: 04 outubro 2020.

PRADO, Silvia Regina Tozato; CECHINEL-Filho, Valdir; BUZZI, Fatima Campos; CORREA, Rogerio; CADENA, Silvia Maria Correia Suter; OLIVEIRA, Maria Benigna Martinelli. Biological Evaluation of Some Selected Cyclic Imides: Mitochondrial Effects and *in vitro* Cytotoxicity. *Zeitschrift fur Naturforschung*, Alemanha, v. 59c, n. 9-10, p. 663-672, set. 2004.

RANG, Humphrey P; RITTER, James M; FLOWER, Roderick J; HENDERSON, Graeme. **Pharmacology**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2016. 760 p.

RESEARCH AND MARKET - Aquaculture Market Analysis, Trends, and Forecasts. Dublin: Research and Market, 2020. 120 p. Disponível em: <https://www.researchandmarkets.com/reports/5007833/global-aquaculture-market-2020-2024>. Acesso em: 02 abril de 2020.

RODRIGUES, Marianna Vaz; FALCONE-DIAS, Maria Fernanda; FRANCISCO, Claire Juliana; DAVID, Gianmarco Silva; SILVA, Reinaldo José; ARAÚJO JÚNIOR, João Pessoa. *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from Brazilian aquaculture: a public health problem. *Emer Life Sci Res.*, Kanpur, v. 5, n. 1, p. 48-55, mai. 2019.

SHIOGIRI, Natália Sayuri; CRUZ, Claudinei da; FERNANDES, Marisa Narciso. Antimicrobianos utilizados no controle de doenças de peixes em sistemas de cultivo. *In*: Tavares-Dias, Mariano, Marcos; Wagner dos Santos (org.). **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. v1. São Carlos: Pedro & João Editores, 2015. cap. 13, p. 245-263.

SILVA, Moisés Oliveira; AQUINO, Simone. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. *Rev. Epidemiol. Controle Infecç.*, Santa Cruz do Sul, v. 8, n. 4, p. 472-482, out. 2018.

SOFIA, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma: FAO, 2020. 244 p Disponível em: <http://www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture>. Acesso em: 10 de out 2020.

OCORRÊNCIA DE FICOTOXINAS EM MOLUSCOS BIVALVES NA ÁREA LITORÂNEA DE SAMBAQUI, FLORIANÓPOLIS-SC AO LONGO DOS ANOS 2018-2020

Michelly P. T. Vieira¹; Miguel F. Schopf²; Vitória F. Bohn³; Rodrigo Ghisi Tobaldini⁴; Silvani Verruck⁵.

RESUMO

As toxinas produzidas a partir de microrganismos aquáticos podem apresentar toxicidade para o ser humano. Essas ficotoxinas podem ser acumuladas nos tecidos de moluscos filtradores e intoxicar seres humanos que venham a consumir estes moluscos. Dependendo da concentração ingerida, os sintomas variam desde náuseas, diarreia, vômito e até mesmo a morte. Considerando a importância da produção de moluscos bivalves na região de Florianópolis, bem como a importância da comercialização de um alimento seguro ao consumidor, este trabalho tem como objetivo analisar os dados de ocorrência de ficotoxinas em mexilhões cultivados na área de Sambaqui, Florianópolis-SC ao longo dos anos 2018-2020. Dentre os resultados do período observado, apenas em agosto de 2020 foi detectada a presença de equivalentes de ácido okadaico, em uma concentração acima do permitido pela legislação, com 250 µg/kg, demonstrando a necessidade de um monitoramento higiênico-sanitário contínuo, a fim de evitar o consumo de um alimento contaminado por ficotoxinas pela população.

Palavras-chave: Ficotoxinas. Moluscos. Mexilhão. Ostra. Maricultura. Malacocultura.

ABSTRACT

The toxins produced by aquatic microorganisms could be toxic to humans. These phycotoxins may accumulate in filter-feeding mollusks tissues, and intoxicate people when consumed. Depending on the amount ingested, symptoms may vary from nausea, diarrhea, and vomiting to death. Considering the importance of both bivalve mollusks farming to Florianópolis city and the providing of safe foods to the consumer, the objective of the present study was to analyze the occurrence data of phycotoxins in farmed mussels in the area of Sambaqui, Florianópolis-SC from 2018 to 2020. Throughout the analyzed period, the presence of okadaic acid was detected, in one single instance and in concentrations of 250 µg/kg - value above the limit permitted by legislation - in August 2020. This occurrence demonstrates the need for continuous hygienic-sanitary monitoring in order to avoid the consumption of food contaminated by phytotoxins by the population.

¹ Graduanda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina. <http://lattes.cnpq.br/1322068978291581>, mick.pontes@gmail.com

² Graduando em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina. miguelfschopf@gmail.com

³ Graduanda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina. bohnvitoria@gmail.com

⁴ Graduando em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina. ghigogt@gmail.com

⁵ Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina. Professora do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. <http://lattes.cnpq.br/0161337771857619>, silvani.verruck@ufsc.br

Keywords: Phycotoxin. Mollusks. Mussel. Oyster. Mariculture.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o estado de Santa Catarina é o que recebe destaque pela produção de moluscos bivalves cultivados, responsável por 95% da produção nacional sendo estes representados pelas ostras, mexilhões, vieiras e berbigões (SOUZA; PETCOV, 2013). No estado, as espécies mais comercializadas são a do Mexilhão (*Perna perna*) e a ostra japonesa (*Crassostrea gigas*), visto que são alimentos de alto valor nutritivo e a região possibilita alta produtividade (OLIVEIRA, 2005). O município de Florianópolis possui núcleos de produção na baía norte, localizados no bairro de Sambaqui e Santo Antônio de Lisboa e também no sul da ilha, no Ribeirão da Ilha (DEMARCHI, 2003). A região de Sambaqui vem tendo um crescimento considerável de unidades destinadas a malacocultura nos últimos anos e cerca de 58% dos produtores obtêm sua renda exclusivamente através desta prática (BECKER, 2008). Os moradores dessas regiões da ilha e do continente (região da Grande Florianópolis), vivem da comercialização de seus produtos através da maricultura, em conjunto com seus produtores que proporcionaram a geração de emprego e renda para o setor (PIEHOWIAK, 2008).

De acordo com estudo realizado por Oliveira (2005), o cultivo de moluscos com fins lucrativos no estado de Santa Catarina surgiu a partir de 1989, sendo iniciado através de pesquisas desenvolvidas pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e em parceria com um grupo de pescadores da localidade de Santo Antônio de Lisboa (comunidade das localidades de Cacupé, Sambaqui e Barra do Sambaqui). Sendo assim, esse cultivo surgiu como uma alternativa para os problemas socioeconômicos da comunidade pesqueira da região e também início da ascensão da pesca artesanal, a qual estava em declínio em todo o estado. Foi através do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da UFSC que o cultivo de moluscos se iniciou, com parceria direta com a Empresa de Pesquisa e Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A (EPAGRI), a qual permitiu a oferta regular de sementes de ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*) e a obtenção de sementes de mexilhões (*Perna perna*) (PIEHOWIAK, 2008). Nessa localidade, as sementes de ostras são obtidas através do LMM/UFSC, do qual é um direito dos produtores por terem iniciado a prática da maricultura na região (BECKER, 2008).

O cultivo de mariscos é mais simples quando comparado com o cultivo de ostras. Os mariscos são extraídos de bancos naturais pelo próprio cultivador, sendo avaliados a cada quatro meses para acompanhar seu desenvolvimento e geralmente é comercializado com dez meses. Os mariscos não sofrem muito com as variações drásticas de temperatura da água ao longo do ano e por isso é considerado um organismo resistente (OLIVEIRA, 2005). Enquanto que as ostras são mais sensíveis e desenvolvem-se melhor nos períodos mais frios do ano, em que as águas possuem temperaturas mais baixas. Esses moluscos são cultivados em coletores, chamados de lanternas, dos quais necessitam de cuidados semanalmente, sendo separadas em tamanho e lavadas com a água do próprio mar, a fim de eliminar predadores. Normalmente, as ostras estão prontas para a comercialização após oito meses, quando atingem oito centímetros. Entretanto, para que mariscos e ostras se desenvolvam de forma saudável, é preciso dedicação do produtor e técnicas de processos de cultivo de moluscos desenvolvidas pela UFSC em conjunto com a EPAGRI (OLIVEIRA, 2005). Atualmente, o sistema contínuo de produção vem ganhando espaço, quando comparado com o sistema artesanal, pois o mesmo possibilita o melhor aproveitamento da área de cultivo, maior produtividade e lucratividade, além da redução de esforços do cultivador durante a semeadura e colheita (SUPLICY, 2017).

Por outro lado, determinadas espécies de fitoplânctons marinhos ou lacustres são responsáveis por sintetizar substâncias químicas complexas, chamadas ficotoxinas, que quando ingeridas por animais filtradores se acumulam em seus organismos e causam intoxicações em mamíferos, peixes marinhos e até mesmo o ser humano (CAMACHO, 2007). Quando a ingestão é feita pelo ser humano, as consequências de consumir moluscos bivalves contaminados são através de sintomas que podem variar desde náuseas, diarreias, vômitos como também podendo levar até a morte (BOBEDA *et al.*, 2016). A taxa de mortalidade causada através dessas toxinas produzidas por algas unicelulares é de 1,5% e geram em torno de 60.000 incidentes por ano mundialmente (GILL *et al.*, 2003). Segundo o estudo realizado por Becker (2008), 100% dos produtores locais comercializam as ostras cruas na casca ou *in natura*. Essa prática pode gerar implicações extremamente graves relacionadas com a segurança e a saúde do consumidor porque os moluscos são animais marinhos filtradores, ou seja, se alimentam de organismos planctônicos e de matéria orgânica particulada podendo ser poluentes, patógenos e/ou toxinas, as quais podem se

acumular em seu organismo e acarretar em diversos malefícios a quem for consumir (ALVES *et al.*, 2010). Sendo assim, o monitoramento de toxinas produzidas por microalgas acumuladas nesses organismos se faz necessário.

Existem aproximadamente 5000 espécies de microalgas conhecidas, cerca de 300 espécies formam florações e 40 são potencialmente produtoras de toxinas (HALLEGRAEFF *et al.*, 1995) deixando a coloração da água visivelmente modificada. A grande proliferação de algas causa um fenômeno característico nas marés, conhecido como maré vermelha, a qual é a fase em que essas algas estão em excessiva proliferação causando manchas e modificando a cor da água (FILHO; WEISS, 2020). Entretanto, nem todas as proliferações de algas são vermelhas, podendo variar sua coloração entre amarelo, marrom, laranja, verde e outras, sendo dependente dos pigmentos presentes nas microalgas responsáveis por essas proliferações (HERNÁNDEZ-OROZCO; GÁRATE-LIZÁRRAGA, 2006). Porém, ainda encontram-se grupos de organismos fitoplanctônicos que quando sintetizam a toxina, não mudam a coloração da água e mesmo assim possuem o poder nocivo mesmo em baixas quantidades (SCHMITT; PROENÇA, 2000). As florações de algas nocivas (FANs) são fenômenos causados pela reprodução excessiva de determinadas espécies de microalgas marinhas, devido à mudanças ambientais que podem ser naturais ou antrópicas (BONECKER *et al.*, 2009). O fenômeno ocorre naturalmente devido ao acúmulo excessivo de matéria orgânica oriundos de drenagem continental, cuja decomposição e remineralização origina os nutrientes que dão suporte para o desenvolvimento das florações (CASTRO; MOSER, 2012). Condições oceanográficas específicas também causam o fenômeno, por transportarem massas d'água ricas em nutrientes para regiões com condições mais favoráveis ao desenvolvimento de florações (BONECKER *et al.*, 2009). O monitoramento do fenômeno das “marés vermelhas” é realizado pela EPAGRI em conjunto com o Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia do Estado de Santa Catarina (CIRAM), os quais atuam periodicamente no recolhimento dos dados e na vigilância de leitura do meio ambiente, coletando os parâmetros ambientais, para acionar as fazendas de cultivo de moluscos quando há incidência da Maré Vermelha (FILHO; WEISS, 2020).

Santa Catarina é o único estado que possui legislação específica para controle de ficotoxinas (CASTRO; MOSER, 2012) e um programa de monitoramento contínuo realizado por órgão governamental. Ele foi iniciado com um projeto-piloto, intitulado “Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves no Litoral de Santa Catarina”,

realizado pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), entre janeiro de 2009 e março de 2010. O projeto monitorou 39 pontos espalhados pelo litoral do estado, onde se realizavam criações de moluscos, envolvendo análises de água e de moluscos (EPAGRI, 2009). Findo o programa de monitoramento realizado pela EPAGRI, somente em 2012 o programa de monitoramento retornou, agora sob o comando da Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC). A publicação da Portaria SAR nº 24/2010, de 21 de dezembro de 2010 instituiu o Comitê Estadual de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves. Somando-se à instrução normativa interministerial nº 7, de 8 de maio de 2012, e Portarias nº 204, de 28 de junho de 2012 e nº 175, de 15 de maio de 2013, iniciou-se o monitoramento continuado de espécies de microalgas potencialmente produtoras de toxinas e análise de toxinas em moluscos bivalves. O programa faz parte do serviço de Defesa Sanitária Animal da CIDASC. As análises do monitoramento são realizadas pela Seção Laboratorial Avançada (SLAV/SC), localizada na cidade de São José/SC, pertencente ao Laboratório Federal de Defesa Agropecuária (LFDA-RS), e os resultados são disponibilizados periodicamente na forma de certificados de ensaios. Neles são apresentados os resultados da determinação da presença de microalgas produtoras de toxinas nos ambientes de cultivo (VIEIRA, 2016).

Considerando a importância da produção de moluscos bivalves na região de Florianópolis, bem como a importância da comercialização de um alimento seguro ao consumidor, este trabalho tem como objetivo analisar os dados de ocorrência de ficotoxinas em mexilhões cultivados na área de Sambaqui, Florianópolis-SC ao longo dos anos 2018-2020.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados referentes aos resultados das análises provenientes do monitoramento de algas nocivas e ficotoxinas foram obtidos a partir de relatórios oficiais da CIDASC dos anos de 2018, 2019 e 2020 para a região de Sambaqui, município de Florianópolis, estado de Santa Catarina (CIDASC, 2018, 2019, 2020).

Os métodos que se utilizam para detectar e quantificar a presença de biotoxinas marinhas são químicos e biológicos, sendo que a metodologia utilizada depende do tipo de toxina, uma vez que pode-se ter análises por cromatografia líquida ou gasosa, método colorimétrico ou fluorimétrico (BARBIERI, 2009). De acordo com Molognoni et

al., (2019), entre os métodos químicos, a cromatografia líquida com detecção ultravioleta (HPLC-UV), cromatografia líquida com derivatização e detecção de fluorescência (HPLC-FLD), e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa em tandem (LC-MS/MS) têm sido frequentemente utilizadas. Geralmente, é aplicado para a determinação da concentração de toxinas lipofílicas e hidrofílicas uma extração sólido-líquido e limpeza de baixa temperatura, seguida por uma cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa em tandem (MOLOGNONI *et al.* 2019).

De acordo com a metodologia aplicada por Molognoni *et al.* (2019), para as análises das ficotoxinas deste estudo, as amostras foram preparadas para as análises, sendo higienizadas em água corrente e o material contido na concha foi retirado com auxílio de tesouras. Em seguida, esse material foi cortado e homogeneizado em um processador de alimentos e sendo colocados a tubos, onde o início da extração ocorreu, utilizando solventes e equipamentos específicos para a operação. A otimização dos parâmetros de extração, como tipo e volume do solvente, temperatura de partição, aditivo e solvente de reconstituição, foi alcançada usando métodos univariados. O extrato final (sobrenadante) foi diluído de acordo com cada grupo de biotoxina utilizando H₂O / ACN (95: 5, v/v) com 0,1% de ácido fórmico e 2,5 mol L⁻¹ de formato de amônio. Para o ácido okadaico e equivalentes (ácido okadaico, dinofisistoxinas1 e 2, espirulida e pectenotoxina), uma alíquota do extrato foi submetida à hidrólise alcalina, de acordo com o protocolo da União Europeia (UE). Ao final, os extratos foram filtrados usando politetrafluoroetileno (PTFE) e / ou centrifugados em tubos de microcentrífuga de polipropileno de 1,5 mL (17300 g de força por 10 min a 4 ° C), transferidos para frascos de HPLC e injetados no sistema LC-MS/MS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do monitoramento de ficotoxinas em moluscos na região de Sambaqui nos anos de 2018, 2019 e 2020 estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3 respectivamente. A investigação da presença, variabilidade e transformação de biotoxinas marinhas em moluscos bivalves é de extrema importância para todos, não só para os consumidores e produtores de moluscos bivalves, mas principalmente as entidades reguladoras em segurança alimentar (MANITA, 2017). Os valores-limite para as biotoxinas marinhas DSP, PSP, ASP, YTX, PTX e AZA estão fixados na

Instrução Normativa Interministerial MPA/MAPA nº 07, de 8 de maio de 2012 e estão expostos na Tabela 4.

Tabela 1 – Monitoramento de ficotoxinas em moluscos bivalves na localidade de Sambaqui no ano de 2018.

Data da coleta	Amostra	Ácido domoico (µg/kg)	Equivalentes à saxitoxina (µg/kg)	Equivalentes à yessotoxina (mg/kg)	Equivalentes ao ácido okadaico (µg/kg)	Equivalentes aos azaspirácidos (µg/kg)
05/02/2018	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND
05/03/2018*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND
19/03/2018*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND
02/04/2018*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND
16/04/2018*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND
30/04/2018*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND
15/08/2018	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND

*: Análises realizadas em duplicata com resultados iguais. ND: Não detectado.

Fonte: Adaptado de CIDASC (2018).

Esses animais são filtradores, dos quais bombeiam, aproximadamente, 10 litros de água do mar por hora. Por isso, mexilhões podem acumular toxinas em seus tecidos se forem expostos a bactérias de origem fecal ou florações de algas nocivas, além de produtos tóxicos como óleos, pesticidas ou metais pesados. Nesse sentido, o ideal é selecionar corretamente o local de cultivo, optando por áreas longe de grandes complexos industriais, petroquímicos ou aglomerações urbanas. O acúmulo de toxinas nos tecidos dos mexilhões, quando consumidos, podem causar distúrbios gastrointestinais, paralisção do sistema nervoso, amnésia e em casos mais severos, até a morte. Para evitar esse tipo de contaminação, é recomendado o monitoramento periódico e contínuo dos mexilhões e da água do mar no local de cultivo (SUPLICY, 2017).

Tabela 2 – Monitoramento de ficotoxinas em moluscos bivalves na localidade de Sambaqui no ano de 2019.

Data da coleta	Amostra	Ácido domoico (µg/kg)	Equivalentes à saxitoxina (µg/kg)	Equivalentes à yessotoxina (mg/kg)	Equivalentes ao ácido okadaico (µg/kg)	Equivalentes à pectenotoxina (µg/kg)	Equivalentes aos azaspirácidos (µg/kg)
06/03/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23/04/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14/05/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28/05/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
09/07/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23/07/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
27/08/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
01/10/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22/10/2019*		ND	ND	ND	ND	ND	ND
05/11/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20/11/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
04/12/2019*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND

*: Somatório de todas as espécies. ND: Não detectado.

Fonte: Adaptado de CIDASC (2019).

Desde 1994, no estado de Santa Catarina, são realizados amostragens de fitoplânctons presentes na costa, em que já foram constatadas florações de algas potencialmente tóxicas. Em 1997 foi incorporado um sistema de monitoramento, por iniciativa do governo estadual, de algas tóxicas, a fim de manter o desenvolvimento sustentável dos moluscos cultivados na região. O monitoramento constante se faz necessário, pois a presença de algas potencialmente tóxicas é preocupante, principalmente pela produção de toxinas, das quais possuem efeitos nocivos adversos, quando acumuladas nos tecidos dos animais desses cultivos e consumidas por seres humanos (MELEGARI, 2010).

Tabela 3 – Monitoramento de ficotoxinas em moluscos bivalves na localidade de Sambaqui no ano de 2020.

Data da coleta	Amostra	Ácido domóico (µg/kg)	Equivalentes à saxitoxina (µg/kg)	Equivalentes à yessotoxina (mg/kg)	Equivalentes ao ácido okadaico (µg/kg)	Equivalentes à pectenotoxina (µg/kg)	Equivalentes aos azaspirácidos (µg/kg)
14/01/2020*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18/02/2020*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17/03/2020*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
16/04/2020	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20/04/2020	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
30/04/2020*	Mexilhão vivo	ND	ND	ND	ND	ND	ND

*: Somatório de todas as espécies. ND: Não detectado.

Fonte: Adaptado de CIDASC (2020).

O ácido domóico é uma neurotoxina produzida a partir de algas unicelulares (PROENÇA; OLIVEIRA., 1999) que age diretamente no sistema nervoso central mais precisamente no hipocampo, interferindo na memória e no aprendizado do ser humano (ADAMS et al., 2009) e não foi encontrado ao longo do período avaliado (2018-2020) na localidade de Sambaqui, Florianópolis-SC (Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3). É uma toxina que surge mais preferencialmente no verão, sendo associada comumente ao fenômeno conhecido como maré vermelha, ocasionada pela floração dessas algas que a biossintetizam (ÁLVAREZ; SANTIAGO., 2006). A primeira ocorrência relatada pela intoxicação proveniente do ácido domóico foi no Canadá, com um pouco mais de 150 indivíduos intoxicados pelo consumo de mexilhões azuis (*Mytilus edulis*) tendo como sintomas diarreia, vômito, e outros casos apresentaram problemas neurais como perda de memória, confusão, desorientação e levando ao coma e até mesmo a morte (WADT, 2014).

Estudo realizado por Proença e Faria (1999) apresentou resultados similares aos encontrados pela CIDASC na região de Sambaqui, onde foram realizadas análises para detecção de ácido domóico em moluscos e em nenhuma das amostras foi detectado a presença da toxina (Tabela 1, 2 e 3). A pesquisa baseou-se na separação cromatográfica da toxina, com identificação pelo tempo de retenção e características espectrais. As amostras dos moluscos foram coletadas nos cultivos da Enseada de Armação do Itapocoroy, no município de Penha e de outras localidades

do litoral norte do estado. Sendo assim, os moluscos cultivados nesta região estariam próprios para consumo, visto que não foi encontrado a toxina nos tecidos do hepatopâncreas. Porém, ressalta-se que esse resultado não é definitivo, pois mudanças ambientais podem potencializar a produção da toxina pelas algas presentes.

A saxitoxina (STX) é um alcalóide neurotóxico também conhecido por causar a síndrome do envenenamento paralisante pelo consumo de mariscos (PSP - *Paralytic Shellfish Poisoning*), produzido através da proliferação de algas unicelulares (dinoflagelados) chamadas *Alexandrium catenella* ou *A. tamarense-excavatum*. O conhecimento sobre seus efeitos em seres humanos ocorreu após a ingestão de moluscos contaminados, constatando-se sua ação no sistema nervoso central, do qual bloqueia os canais de sódio nas membranas dos neurônios, interrompendo a condução nervosa, causando paralisia muscular. Além disso, interferem nos canais de cálcio e potássio nas células musculares do coração (MELEGARI, 2010; MIOTTO, 2016). Hernández-Orozco e Gárate-Lizárraga (2006) afirmam que a STX é uma das toxinas naturais mais potentes conhecidas, pois rapidamente é absorvida pela mucosa oral e gastrointestinal, entretanto, a gravidade e a progressão dos sintomas dependentes do tamanho da dose, a susceptibilidade do indivíduo e o grau de eliminação, visto que a toxina é eliminada pela urina. Essa toxina também não foi encontrada ao longo do monitoramento no período avaliado (2018-2020) na localidade de Sambaqui, Florianópolis-SC (Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3).

Toxinas diarreicas de marisco (DSP) são geralmente produzidas por diversos protistas dinoflagelados do gênero *dynophysis* (KILINÇ; BESLER, 2015), essas toxinas são divididas em diferentes grupos, dependendo da estrutura química. O primeiro grupo inclui o ácido okadaico (AO) e seus derivados incluindo as dinofisistoxinas (DTXs), o segundo grupo é formado pelas yessotoxinas (YTXs) e o terceiro pelas pectenotoxinas (PTXs). No entanto, apenas o grupo do AO e seus derivados incluindo as DTXs é considerado promotor da síndrome diarreica. As outras toxinas são consideradas isoladamente, uma vez que sua ação não envolve os sintomas descritos para a síndrome (SOUZA, 2014). O ácido okadaico e seus derivados (HWANG; CHEN, 2016), são organismos consumidos por moluscos, onde as toxinas, poliéteres lipofílicos e termicamente estáveis, são acumulados no hepatopâncreas do animal que será subsequentemente consumido por humanos onde causarão a intoxicação (DOMINGUEZ *et al.*, 2010). Em comparação com outras

intoxicações associadas ao consumo de moluscos, as DSP são relativamente brandas, com sintomas que incluem diarreia, dores abdominais, náusea, calafrios e vômito, com duração de até 3 dias (DOLAN *et al.*, 2010), não tendo registro de nenhuma morte causada por intoxicação aguda por DSPs até 2010 (DOMINGUEZ *et al.*, 2010). Porém a exposição repetida ao ácido okadaico e seus análogos pode apresentar atividade carcinogênica podendo atacar o fígado e a mucosa intestinal (HWANG; CHEN, 2016).

A Tabela 3 referente ao ano de 2020, mais precisamente nas datas de 5 de Agosto e 22 de Setembro, apresentaram resultados positivos na detecção das toxinas do ácido okadaico (AO), yessotoxina (YTX) e a pectenotoxina (PTXs). Com relação ao resultado da toxina do ácido okadaico na data 5 de Agosto, a amostra apresentou concentração acima do permitido pela legislação com 250 µg/kg, indicando a necessidade do controle através de um monitoramento efetivo e contínuo, uma vez que essa toxina ataca diretamente o sistema gastrointestinal e neurológico trazendo danos significativos às pessoas.

Estudo realizado por Mariné *et al.* (2010) detectou AO em mexilhões (*Perna perna*) coletados em Angra dos Reis/ Rio de Janeiro. A toxina estava presente em baixa concentração nas amostras coletadas em 2006, entretanto, esses resultados indicam que há necessidade da elaboração e aplicação efetiva de um programa de controle higiênico-sanitário desses moluscos, como, por exemplo, monitoramento da água, a fim de manter a saúde pública. Esta toxina mesmo que em concentrações baixas, estando dentro do limite permitido pela legislação em alguns casos (Tabela 4), há risco iminente da ocorrência de um evento tóxico, além de efeitos crônicos associados a ingestão de baixas concentrações da toxina por um longo período de tempo (MARINÉ *et al.*, 2010).

A magnitude das florações de espécies tóxicas está diretamente relacionada aos processos oceanográficos. Amostras obtidas por Tavares *et al.* (2009) na Enseada da Armação do Itapocoroy, região costeira onde a criação de mexilhão (*Perna perna*) é desenvolvida desde 1990, mostraram que no período de inverno-primavera há maior probabilidade de dominância de *D. acuminata* pode levar à mais registros de DSP. Na primavera os gêneros de organismos produtores de toxinas mais abundantes seriam *Dinophysis*, *Prorocentrum* e *Pseudo-nitzschia*. Nessa estação, a área estaria mais sujeita a sofrer com casos de DSP e ASP (CASTRO; MOSER, 2012). Mello *et al.* (2010) também chamam a atenção que, em especial as florações

de *D. acuminata*, estão crescendo em uma frequência alarmante ao longo da costa de Santa Catarina, e afetando negativamente a economia da região, já que podem ter efeitos sobre o sistema imunológico de bivalves, especialmente quando esses acumulam altas concentrações de toxinas em seus tecidos. Essa capacidade de acúmulo varia de espécie para espécie: *P. perna*, por exemplo, mostra grande capacidade de acúmulo de AO e baixa de eliminação da toxina (CASTRO; MOSER, 2012).

Tabela 4 - Valores-limite de acordo com a Instrução Normativa Interministerial MPA/MAPA nº 07, de 08 de Maio de 2012.

Biotoxinas Marinhas	Valores-limite
Ácido okadaico (AO)	160 µg AO equiv./kg
Pectenotoxina (PTXs)	160 µg/kg
Yessotoxina (YTX)	<1 mg/kg

Fonte: Adaptado de BRASIL (2012).

Yessotoxinas (YTX) é um grupo de toxinas produzidas por dinoflagelados dos gêneros *protoceratium*, *lingulodinium* e *gonyaulax*, sendo poliéteres semelhantes em suas composições químicas às DSPs (PAZ *et al.*, 2008). Essa toxina não foi encontrada acima dos limites estabelecidos pela legislação (Tabela 4) ao longo do monitoramento no período avaliado (2018-2020) na localidade de Sambaqui, Florianópolis-SC (Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3). De acordo com a legislação, o valor-limite para a yessotoxina deve ser inferior a 1mg/kg (<1 mg/kg YTX), visto isso, a comparação entre o valor da legislação e o encontrado no presente trabalho, mostrou-se estar dentro do padrão imposto. Visto que os resultados positivos de pectenotoxina e yessotoxina (Tabela 3) foram em pequenas quantidades e de caráter único, este caso pode ser atribuído a fatores que influenciam o crescimento da população destas microalgas, como mudança climática ou grande aporte de matéria orgânica na água de cultivo (SOUZA, 2015, apud HALLEGRAEFF, 2003), e a não detecção no teste seguinte é evidência de uma subsequente depuração natural dos mexilhões após a quantidade de microalgas no meio normalizar (SOUZA, 2015, apud LOURENÇO, 2007).

Testes em ratos envolvendo a injeção de yessotoxinas em alta concentração apresentaram toxicidade semelhante às das DSPs, sendo, portanto, geralmente

classificadas junta dessas (DOMINGUEZ *et al.*, 2010). Alarcan (2019) aponta que estas toxinas são quase sempre encontradas em moluscos juntamente com as DSPs tradicionais e apresentam efeito sinérgico quando em concentrações altas o suficiente, agravando a intoxicação por DSPs. Os efeitos dessas toxinas em ratos varia dependendo do tipo de exposição, quando administrada por injeção mostra efeito altamente tóxica, porém quando ingerida os efeitos são mínimos, e notavelmente, não apresenta atividade diarreica, nem inibe proteínas fosfatase, em contraste com as DSPs (PAZ *et al.*, 2008), estas descobertas levaram a yessotoxina a ser classificada separadamente. Apesar de o seus mecanismos de ação são pouco conhecidos, descobertas recentes apontam que esta interfere na captação de cálcio no organismo, impede a interação do cálcio com a calmodulina relacionada com a musculatura lisa e afeta os sistemas de homeostase do organismo de roedores, além de promover morte e ruptura celular (BAGRYANTSEVA *et al.*, 2018).

A toxina azaspirácido (AZA) é um poliéster ácido contendo um anel azaspiro pouco comum, donde deriva o seu nome: azaspirácido-1, ou AZA1 (SATAKE *et al.*, 1998). A toxina AZA foi registrada pela primeira vez em 1995, na Holanda, devido ao consumo de mexilhões contaminados provenientes da Irlanda (McMAHON; SILKE, 1996). Essa toxina também não foi encontrada ao longo do monitoramento no período avaliado (2018-2020) na localidade de Sambaqui, Florianópolis-SC (Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3). Inicialmente foi associada ao dinoflagelado *Protoperidinium crassipes*, e ultimamente relacionado à *Azadinium spinosum*, espécie recentemente descoberta (CASTRO; MOSER, 2012). O seu mecanismo de ação não altera o potencial de membrana celular, por isso não é neurotóxico; altera a concentração de F-actina, tendo, portanto, o citoesqueleto como um dos alvos; aumenta o nível de íons de cálcio no citoplasma celular (ROMÁN *et al.*, 2002). Com isto, acaba sendo uma síndrome exclusivamente gastrointestinal idêntica à da DSP: náuseas, vômitos, diarreia abundante e dores abdominais, e tendo como seus principais vetores os mexilhões (VALE, 2004).

Em geral, as toxinas lipofílicas, são as toxinas mais comuns, conforme evidenciado neste trabalho, como as toxinas do grupo do AO, as quais são responsáveis por causar intoxicações diarreicas e serem designadas por DSP (*Diarrhetic Shellfish Poisoning* ou intoxicação diarreica por molusco). As toxinas hidrofílicas do grupo da saxitoxina (STX) são responsáveis pela intoxicação paralisante PSP (*Paralytic Shellfish Poisoning* ou intoxicação paralisante por molusco)

e por fim, as toxinas do grupo do ácido domoico (AD) que são responsáveis por intoxicações amnésicas ASP (*AmnesicShellfishPoisoning* ou intoxicação amnésica por molusco) as quais são outros dois grupos de biotoxinas monitorizadas. Outras toxinas como yessotoxinas (YTX), pectenotoxinas (PTX) e azaspirácidos (AZA) são também regularmente analisadas nos bivalves (MANITA, 2017).

CONCLUSÕES

Houve a presença de toxinas marinhas do grupo DSP (*DiarrheticShellfishPoisoning* ou intoxicação diarreica por molusco) no ano de 2020, sendo elas o ácido okadaico, a yessotoxina e a pectenotoxina, indicando a presença de algas com potencial tóxico na região. A produção dessas toxinas pode estar relacionada com alterações climáticas específicas, não sendo um evento contínuo, visto que em análises posteriores não detectaram a presença dessas toxinas.

Dentre os resultados do período observado, apenas em Agosto de 2020 foi detectada a presença de equivalentes ao ácido okadaico, em uma concentração acima do permitido pela legislação com 250 µg/kg, demonstrando a importância de um monitoramento higiênico-sanitário contínuo (já realizado pela CIDASC), a fim de evitar o consumo de um alimento contaminado por ficotoxinas pela população.

A ausência da maioria das toxinas produzidas por algas marinhas em moluscos bivalves nos anos de 2018 a 2020 na região de Sambaqui, aponta que já existe um controle adequado da qualidade do ambiente de cultivo destes mexilhões para estas toxinas, mas é necessário o monitoramento contínuo, visto que causas naturais como mudanças climáticas podem ocasionar o crescimento excessivo de algas e microalgas que podem produzir estas toxinas.

REFERÊNCIAS

ADAMS, A. L.; DOUCETTE, T. A.; JAMES, R.; RYAN, C. L. Persistent changes in learning and memory in rats following neonatal treatment with domoic acid. **Physiology & Behavior**, v. 96, n. 4-5, p. 505-512, 2009.

ALARCAN, Jimmy *et al.* Combined effects of okadaic acid and pectenotoxin-2, 13-desmethylspirolide C or yessotoxin in human intestinal Caco-2 cells. **Chemosphere**, v. 228, p. 139-148. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.018>

ÁLVAREZ, Pedro P.; SANTIAGO, Carlos A. Ausencia de biotoxina ácido domoico en los Pantanos de Villa. **Ecología Aplicada**, v. 5, n. 1-2, p. 167-170, 2006.

ALVES, Thiago Pereira *et al.* Implementação e avaliação do monitoramento de algas nocivas e de ficotoxinas em um cultivo de moluscos em Florianópolis–SC. 2010. **Atlântica**, v. 32, n. 1, p. 71-77. 2010. DOI: 10.5088/atl.2010.32.1.71.

BAGRYANTSEVA O.V., EVSTRATOVA A.D., KHOTIMCHENKO S.A. Yessotoxin: risk assessment for public health. Justification of regulations of content in seafood. **VoprPitan**, v.87, n. 3, p. 18-29. 2018. Rússia. DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10027.

BARBIERI, Edison. O perigo das biotoxinas marinhas. **Instituto de Pesca**, 2009.

BECKER, Daniella de Sousa Maria. **Diagnóstico da produção de moluscos no município de Florianópolis/SC**. 2008. 121 f. Trabalho de Conclusão de curso (Graduação em Ciências Econômicas) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2008.

BOBEDA, Cláudio Roberto Ribeiro *et al.* Ficotoxinas: revisão sobre um perigoso grupo de contaminantes para o pescado brasileiro. **Semioses**, v. 10, n. 3, p. 1-12, 2016.

BONECKER, Ana Cristina Teixeira; BONECKER, Sérgio Luiz Costa; BASSANI, Christina. Plâncton Marinho. *In*: PEREIRA, Renato Crespo; SOARES-GOMES, Abílio (Org.). **Biologia Marinha**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2009. Cap. 9. p. 213-240.

BRASIL. MPA/MAPA. Instrução Normativa Interministerial nº7 de 8 de maio de 2012. Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), estabelece os procedimentos para a sua execução e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF.

CAMACHO, F.G. *et al.* Biotechnological significance of toxic marine dinoflagellates. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 2, p. 176-194, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.008>

CASTRO, Nathália Oliveira de; MOSER, Gleyci A. de Oliveira. Florações de algas nocivas e seus efeitos ambientais. **Oecologia Australis**, v. 16, n. 2, p.235-264, 2012. <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2012.1602.05>.

CIDASC. Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina. Serviço - Defesa Sanitária Animal. **Resultado do Monitoramento de Algas Nocivas e ficotoxinas em Moluscos Bivalves. 2020**. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/defesasaniaanimal/resultado-do-monitoramento-de-algas-nocivas-e-ficotoxinas-em-moluscos-bivalves-2020/>. Acesso em: 17 out. 2020

CIDASC. Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina. Serviço - Defesa Sanitária Animal. **Resultado do Monitoramento de Algas Nocivas e ficotoxinas em Moluscos Bivalves. 2019**. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/defesasaniaanimal/resultado-do-monitoramento-de-algas-nocivas-e-ficotoxinas-em-moluscos-bivalves-2019/>. Acesso em: 17 out. 2020

CIDASC. Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina. Serviço - Defesa Sanitária Animal. **Resultado do Monitoramento de Algas Nocivas e ficotoxinas em Moluscos Bivalves. 2018.** Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/defesasaniaanimal/resultado-do-monitoramento-de-algas-nocivas-e-ficotoxinas-em-moluscos-bivalves-2018/>. Acesso em: 17 out. 2020

DEMARCHI, Candi Güttler. **Estudo de mercado - O comércio de ostras e mexilhões em Santa Catarina.** 2003.

DOLAN, L.C.; MATULKA, R.A.; BURDOCK, G.A. Naturally Occurring Food Toxins. **Toxins**, v. 2, p. 2289-2332. 2010.

DOMINGUEZ, H.J *et al.* Dinoflagellate polyether within the yessotoxin, pectenotoxin and okadaic acid toxin groups: characterization, analysis and human health implications. **Toxicon**, v. 56, n. 2, p. 191-217. 2010.

EPAGRI. **Dados primários do levantamento de algas nocivas das áreas de cultivo de moluscos bivalves de Santa Catarina realizado no ano de 2009:** Controle Higiênico e Sanitário de Moluscos Bivalves no Litoral de Santa Catarina. Florianópolis: Epagri, 2009. 30 p

FAZION FILHO, Mauro; WEISS, Jorge Luiz. IDENTIFICAÇÃO E CONTROLE DE ALGAS TÓXICAS NA PRODUÇÃO DE MOLUSCOS: MODELO DE PLATAFORMA COM INTERNET DAS COISAS (IOT). **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 9, n. 2, p. 356-375, 2020.

GILL, Santokhet *et al.* Neural Injury Biomarkers of Novel Shellfish Toxins, Spirolides: A Pilot Study Using Immunochemical and Transcriptional Analysis. **NeuroToxicology**. v. 24; n. 4-5, p. 593 - 604. 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0161-813X\(03\)00014-7](https://doi.org/10.1016/S0161-813X(03)00014-7)

HALLEGRAEFF, G.M.; Anderson, D.M. & A.D. Cembella. 1995. Manual on Harmful Marine Microalgae. **IOC Manuals and Guides**, n. 33, UNESCO.

HERNÁNDEZ-OROZCO, Martha L; GÁRATE-LIZÁRRAGA, Ismael. Síndrome de envenenamiento paralizante por consumo de moluscos. **Revista Biomédica**, v. 17, n. 1, p. 45-60, 1 jan. 2006. Autonomous University of Yucatan. <http://dx.doi.org/10.32776/revbiomed.v17i1.438>

HWANG, D-F., CHEN, T-Y. Toxins in Food: Naturally Occurring. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 326-330. 2016. DOI:10.1016/B978-0-12-384947-2.00698-X.

KILINÇ, B.; BESLER, A. Seafood toxins and poisonings. **Istanbul University Journal of Fisheries & Aquatic Sciences**, v 30, n. 35. 2015. DOI: 10.18864/iujfas.60084.

MANITA, Diana Filipa Pereira. **Bioacessibilidade in vitro das biotoxinas marinhas ácido ocadaico, dinofisistoxina-2 e seus derivados em bivalves crus e cozinhados.** 2017. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) - Universidade de Lisboa. Lisboa. 2017.

MARINÉ, Geisi Ferreira et al. Detecção de ácido ocadaico em cultivo de mexilhões Perna perna, Angra dos Reis, RJ. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p. 193-196, 2010.

McMAHON, T.; SILKE, J.. Winter toxicity of unknown aetiology in mussels. **Harmful Algae News**, 14, 2., 1996

MELEGARI, Sílvia Pedroso. **Estudo do mecanismo de ação tóxica da saxitoxina e avaliação de sua adsorção em materiais alternativos para aplicação**. 2010. 205 f. Tese (Doutorado em Toxicologia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2010.

MELLO, D.F.; PROENÇA, L.A.O. & BARRACCO, M.A. 2010. Comparative study of various immune parameters in three bivalve species during a natural bloom of *dinophysiscuminata* in Santa Catarina island, Brazil. **Toxins**, v. 2, p. 1166-1178, DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/toxins2051166>.

MIOTTO, Maria Cecília. **Caracterização ecofisiológica e molecular de duas cepas de *Cylindrospermopsis raciborskii*, produtoras de saxitoxina, isoladas da lagoa do peri, Florianópolis, SC**. 2016. 112 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biociência) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

MOLOGNONI, Luciano *et al.* Cost-effective and high-reliability analytical approach for mult toxin screening in bivalve mollusks by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 9, p. 2691-2699, 2019.

OLIVEIRA, Guilherme Indio de. **Criação De Ostras E Mexilhões No Distrito De Santo Antônio De Lisboa - Município De Florianópolis - SC- Brasil**. 2005. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2005.

PAZ, B.; DARANAS, A.H.; NORTE, M.; RIOBÓ, P.; FRANCO, J.M.; FERNÁNDEZ, J.J. Yessotoxins, a group of marine polyether toxins: an overview. **Mar. Drugs**, 6, 73-102. 2008.

PIEHOWIAK, Reginil. **A formação de redes na malacocultura catarinense**. 2008. 83 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Econômicas) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2008.

PROENÇA, L. A.; OLIVEIRA, G. F. Análise de ácido domóico em moluscos cultivados no litoral de Santa Catarina. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 27-32, 1999.

ROMÁN, Y., Alfonso, A. *et al.* Azaspiracid-1, a potent, nonapoptotic new phycotoxin with several cell targets. **Cell Signalling**, v. 14, n. 8, p. 703-716, 2002.

SATAKE, M., *et al.* Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels, *Mytilus edulis*. **J. Am. Chem. Soc.**, 120, p. 9967-9968, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja981413r>

SCHMITT, F.; PROENÇA, L.A. Ocorrência de dinoflagelados do gênero *dinophysis* (enrenberg, 1839) na enseada de cabeçudas (verão e outono de 1999). 2000. **Notas téc. Facimar**. v, 4. p, 49-59, 2000. DOI: [tps://doi.org/10.14210/bjast.v4n1.p49-59](https://doi.org/10.14210/bjast.v4n1.p49-59)

SOUZA, D.A., *et al.* Cultivo de Moluscos Bivalves: Algas Nocivas e Bases para Programa de Monitoramento de Ficotoxinas em Fazenda de Maricultura de Arraial do Cabo, RJ. **Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego**. 9. 119-139. doi:10.19180/2177-4560.v9n115-07.

SOUZA, Daniela Almeida de. **Avaliação da toxicidade de mexilhões *Perna perna* (Linnaeu, 1758) e monitoramento fitoplanctônico em fazenda de maricultura da Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ – Macaé, RJ**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense. Macaé. 2014.

SOUZA, R. V.; PETCOV, H. F. D. **Comércio legal de moluscos bivalves. Florianópolis, SC: Epagri**, 2013. 58 p. (Epagri. Boletim Didático, 95).

SUPLICY, F. M. **Cultivo de mexilhões: sistema contínuo e mecanizado. Florianópolis: Epagri**, 2017. 124p.

TAVARES, J.F.; PROENÇA, L.O. & ODEBRECHT, C. 2009. Assessing the harmful microalgae occurrence and temporal variation in a coastal aquaculture area, southern Brazil. **Atlântica**, 31: 129-144, <http://dx.doi.org/10.5088/atl.2009.31.2.129>.

VALE, P.. Biotoxinas marinhas. **Revista Portuguesa de Veterinária**. v. 99: p, 3-18, 2004.

VIEIRA, Danilo Teixeira. **Revisão bibliográfica sobre o fenômeno das marés vermelhas nas baías da ilha de Santa Catarina, sul do Brasil**. 2016. 67 f. Relatório (Estágio Supervisionado) - Curso de Engenharia de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

WADT, Pedro Rebello. **Produção de ácido domóico por pseudo-nitzschia spp. do Sul do Brasil, respostas alimentares e acúmulo de toxinas por bivalves expostos**. 2014. 58 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Costeiros e Oceânicos) - Universidade Federal do Paraná. Pontal do Paraná. 2014.

O DIREITO AO MEIO AMBIENTE DE TRABALHO EQUILIBRADO NA MARICULTURA

Poliana Ribeiro dos Santos¹

RESUMO

A Aquicultura vem ganhando grande destaque mundial nas últimas décadas, sendo os principais pontos de destaque: produção de alimento saudável, baixo custo de produção, indícios de cultivo sustentável, empregabilidade de mão de obra não qualificada, geração de emprego e renda. Em 2018, dados mais recentes, a produção aquícola mundial chegou a 82.1 milhões de toneladas e a de pesca a 96.4. Do total da produção, foram direcionados 156.4 milhões de toneladas para o consumo humano, movimentando só de exportação mais de USD 164 bilhões. A produção aquícola de 2018 se dividiu em peixes - 54.279 milhões de toneladas, moluscos - 17.511, crustáceos - 9.387 e outros animais aquáticos - 919, não entrando nesse quadro a produção de algas. Observa-se que a produção de moluscos é a segunda maior produção mundial aquícola, sendo a ostra e o mexilhão a principal produção de molusco mundial (FAO, 2020). No âmbito nacional, Santa Catarina se apresenta como o principal estado maricultor desde 1990, detendo 97% da produção nacional. Os principais produtores de moluscos catarinenses estão nos municípios de Florianópolis, Palhoça, São José e Governador Celso Ramos. Apesar de todo esse avanço e destaque para a Aquicultura e para a Maricultura, pouco se tem investido e estudado sobre os direitos e a qualidade de vida dos trabalhadores na área. Apesar do grande arsenal jurídico nacional e internacional sobre a temática, pouco se investe no meio ambiente do trabalho equilibrado da área e na promoção do trabalho decente. Há registros de riscos, insalubridades e desrespeitos a legislação nacional trabalhista no desenvolvimento da atividade no país, o que dificulta no progresso e na expansão do setor. O presente estudo objetiva evidenciar a necessidade de uma interlocução entre o Direito e a Aquicultura, para o desenvolvimento de pesquisas interdisciplinares.

Maricultura. Meio ambiente de trabalho equilibrado. Trabalho decente.

ABSTRACT Palavras-chaves:

Aquaculture has been gaining great prominence worldwide in recent decades, being the main points of prominence: production of healthy food, low cost of production, evidence of sustainable cultivation, employability of unskilled labor, generation of jobs and income. In 2018, more recent data, world aquaculture production reached 82.1 million tonnes and that of fisheries 96.4. Of the total production, 156.4 million tons were directed to human consumption, with more than USD 164 billion in exports alone. The 2018 aquaculture production was divided into fish - 54,279 million tons, molluscs - 17,511, crustaceans - 9,387 and other aquatic animals - 919, with algae production not included in this picture. It is observed that the production of molluscs is the second

¹ Mestre pelo Programa de Pós-Graduação Profissional em Direito da Universidade Federal de Santa Catarina (PPGPD/UFSC), na área de concentração: Direito e acesso à justiça, linha de pesquisa: Acesso à justiça e formas alternativas de resolução de conflitos: a administração da justiça sob o enfoque do diálogo. Pós-graduada em Direito Penal e Processual Penal, com capacitação para o Ensino no Magistério Superior, pela Faculdade de Direito Professor Damásio de Jesus (2015). Bacharel em Direito, pela Universidade do Sul de Santa Catarina - UNISUL (2011). Graduada de Engenharia de Aquicultura, pela Universidade Federal de Santa Catarina. Atua como Advogada desde janeiro de 2013 e como professora desde 2017.

largest world aquaculture production, with oysters and mussels being the main production of mollusks worldwide (FAO, 2020). At the national level, Santa Catarina has been the main maricultural state since 1990, holding 97% of the national production. The main producers of shellfish from Santa Catarina are in the municipalities of Florianópolis, Palhoça, São José and Governador Celso Ramos. Despite all this progress and emphasis on Aquaculture and Mariculture, little has been invested and studied on the rights and quality of life of workers in the area. Despite the large national and international legal arsenal on the subject, little is invested in the area of balanced work in the area and in the promotion of decent work. There are records of risks, unhealthiness and disrespect for national labor legislation in the development of activity in the country, which hinders the progress and expansion of the sector. This study aims to highlight the need for a dialogue between Law and Aquaculture, for the development of interdisciplinary research.

Keywords: Mariculture. Balanced work environment. Decent work.

INTRODUÇÃO

Em suma, se propõe no presente articular o desenvolvimento de uma pesquisa interdisciplinar entre o Direito (Direito do Trabalho, Direito Ambiental, Direitos Humanos, Direito Internacional), Aquicultura (Maricultura), Ecologia e Desenvolvimento Sustentável. Objetivando analisar como o potencial da maricultura brasileira em desenvolvem um cultivo sustentável atento ao trabalho decente e ao meio ambiente do trabalho equilibrado.

A Aquicultura se divide de acordo com o tipo de cultivo, sendo a criação de peixes a principal atividade desenvolvida, seguida da produção de moluscos. O cultivo de moluscos se diferencia do cultivo de peixes em vários fatores de sustentabilidade e de otimização de produção, principalmente por não utilizar espaço físico terrestre e não utilizar insumos artificiais. Atualmente a Aquicultura é responsável pela produção global de 46% da produção total de alimentos de origem animal aquática (FAO, 2020).

A maricultura é um ramo da Aquicultura, responsável pelo cultivo controlado de animais aquáticos marinhos, dentro do próprio ambiente natural. No Brasil, a maricultura se restringe apenas ao cultivo de moluscos, como: mexilhões (*Perna perna*), ostras (*Crassostrea gigas*) e vieiras (*Nodipecten nodosus*) (EPAGRI, 2019). Ainda, o Brasil se destaca por ser o segundo maior produtor de moluscos da América Latina. Sendo que Santa Catarina se apresenta como o maior produtor nacional, concentrando 97% da produção de moluscos no mar da costa catarinense. As principais cidades maricultoras são: Florianópolis, São José. Palhoça e Governador Celso Ramos (EPAGRI, 2019).

Essa cadeia produtiva colabora para o desenvolvimento econômico, social, político, jurídico e ambiental do país. Se mostrando como um grande polo para pesquisas interdisciplinares, especialmente com o Direito. Desse modo, o presente artigo busca possibilitar o confronto e complementaridade de diferentes focos, vertentes e visões sobre o trabalho e o trabalhador na maricultura. Contribuindo teoricamente com reflexões críticas e interdisciplinares sobre a sustentabilidade da maricultura, o trabalho decente e o meio ambiente equilibrado para os trabalhadores.

LEGISLAÇÃO PARA O TRABALHO DECENTE

A presente pesquisa está sustentada em uma visão holística do processo de produção de moluscos bivalves no Brasil. Levando em conta a interdisciplinaridade correspondente a esse processo produtivo, há uma interface indispensável entre várias áreas do conhecimento, como Direito (Direito do Trabalho, Direito Ambiental, Direitos Humanos, Direito Internacional), Aquicultura (Maricultura), Ecologia, Desenvolvimento sustentável, entre outras. Diante da complexidade do tema aqui proposto, será necessário ultrapassar a perspectiva setorial e buscar um enfoque sistêmico.

Quanto ao viés sistêmico e da correspondente interdisciplinaridade sugerida, a autora Norma Sueli Padilha (2010a, 2010b, 2011, 2013a, 2013b, 2018) salienta a importância do incentivo de pesquisas nessa modalidade visando “resolver os problemas gerados pela excessiva fragmentação da educação e da pesquisa que se vem acentuando a partir do século XIX” (PADILHA, 2010a, p.1966). A autora vai mais além e compreende a interdisciplinaridade como uma forma de transferência de “métodos de uma área científica (disciplina) para outra, por meio do diálogo entre os diferentes campos do saber, com o intuito de promover interações ou reciprocidades entre pesquisas especializadas” (PADILHA, 2010a, p.1966). Ou seja, a pesquisa interdisciplinar possui potente e ampla gama de busca do conhecimento, oportunizando a compreensão aprofundada do objeto de pesquisa

A Aquicultura vem ganhando grande destaque mundial nas últimas décadas, sendo os principais pontos de destaque: produção de alimento saudável, baixo custo de produção, indícios de cultivo sustentável, empregabilidade de mão de obra não qualificada, geração de emprego e renda. Em 2018, dados mais recentes, a produção aquícola mundial chegou a 82.1 milhões de toneladas e a de pesca a 96.4. Do total da produção, foram direcionados 156.4 milhões de toneladas para o consumo

humano, movimentando só de exportação mais de USD 164 bilhões. A produção aquícola de 2018 se dividiu em peixes - 54.279 milhões de toneladas, moluscos - 17.511, crustáceos - 9.387 e outros animais aquáticos - 919, não entrando nesse quadro a produção de algas. Observa-se que a produção de moluscos é a segunda maior produção mundial aquícola, sendo a ostra e o mexilhão a principal produção de molusco mundial (FAO, 2020).

No âmbito nacional, Santa Catarina se apresenta como o principal estado maricultor desde 1990, detendo 97% da produção nacional. Os principais produtores de moluscos catarinenses estão nos municípios de Florianópolis, Palhoça, São José e Governador Celso Ramos. Na safra de 2018, a mais recente contabilizada, foram comercializadas 14.214,5 toneladas de moluscos (entre mexilhão, ostras e vieiras). Gerando uma movimentação financeira bruta de aproximadamente R\$ 71.000.000,00 para o estado (EPAGRI, 2019).

Apesar do destaque internacional e do crescente mercado da aquicultura mundial, ainda há poucas pesquisas e investimentos no desenvolvimento dos Direitos Humanos dos trabalhadores envolvidos na área, visto que todas as atenções são voltadas para potencializar a produção e lucro. Ainda mais considerando precisamente a maricultura, uma subárea da aquicultura, onde o desenvolvimento de tecnologias, pesquisas e tutela jurídica ainda não ganharam força e visibilidade.

Pesquisas indicam que a maricultura brasileira apresenta riscos multifatoriais à saúde e segurança do trabalhador, colocando em risco o equilíbrio do meio ambiente do trabalho (GUERTLER, 2017). Alguns fatores comuns observados nesses ambientes de trabalho que expõe o trabalhador são: ruídos excessivos, acidentes com maquinário, afogamento, choque, condições climáticas extremas, cortes, escorregões, quedas, queimaduras solares, ruído, umidade exposições biológicas e química (GUERTLER, 2017). Riscos de pele, ocular, respiratório, audição e distúrbios musculoesqueléticos são apenas alguns dos diversos fatores a quais os maricultores estão expostos. Apesar das poucas pesquisas brasileiras dedicadas a investigar este cenário, há pesquisas internacionais sobre a temática, onde, inclusive, expõe índices e relatos de acidentes de trabalho fatais (HOLEN; UTNE; HOLMEN; AASJORD, 2018; MYERS; DURBOROW; KANE; MYERS; DURBOROW, 2018; MYERS; DURBOROW, 2012; NGAJILO; JEEBHAY, 2019).

Há fortes indícios de que o cenário exposto contraria o conceito internacional de trabalho decente da Organização Internacional do Trabalho (OIT), que busca

promover um trabalho com liberdade, segurança, equidade, dignidade humana e que mantenha a preservação da saúde (física, mental, psicológica e psíquica) do trabalhador. Como também se distancia das metas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), da Agenda 2030 de Desenvolvimento Sustentável. Conforme pode ser observado no ODS 8 “Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo e trabalho decente para todas e todos” (ONU, 2015) e no ODS 4.4 “aumentar substancialmente o número de jovens e adultos que tenham habilidades relevantes, inclusive competências técnicas e profissionais, para emprego, trabalho decente e empreendedorismo” (ONU, 2015).

Visando a saúde trabalhador, o meio ambiente do trabalho e o trabalho decente, ainda há o Programa internacional para a melhoria das condições e do meio ambiente de trabalho (PIACT) e a meta social da Organização Mundial da Saúde (OMS) de saúde para todos, que respaldou a Declaração Alma-ATA, onde inclui expressamente a saúde como um direito humano fundamental (SCHAEFER, 2020). E no âmbito nacional há ampla tutela jurídica sobre o tema, como pode ser observado na própria Constituição Federal de 1988, em seus arts. 1º, 200 e 225; na Consolidação das Leis do Trabalho (CLT), que traz em seu bojo a proteção a segurança e saúde do trabalhador, em seu Capítulo V (BARROS; PADILHA, 2017). E as Normas Regulamentadoras (NR) do Ministério do Trabalho, especialmente a NR 31, que dispõe sobre segurança e saúde no trabalho na agricultura, pecuária silvicultura, exploração florestal e aquicultura.

Observa-se que há um grande arsenal de legislação internacional e nacional que busca a proteção da saúde do trabalhador, da dignidade humana do trabalhador e do meio ambiente do trabalho. Mas há poucas pesquisas dedicadas a investigar até onde essa tutela jurídica de fato alcança e respalda o trabalhador maricultor brasileiro.

Ainda, observa-se que após as Conferência da Organização das Nações Unidas (ONU) para o Meio Ambiente e Desenvolvimento (Rio-92), realizada no Brasil em 1992, e a Cúpula da ONU sobre Desenvolvimento Sustentável (Rio+10), realizada na África do Sul em 2002, a aquicultura recebeu destaque global em virtude dos impactos socioambientais negativos. O que colocou a atividade em evidência internacional, para direcionamento de políticas públicas e medidas de prevenção e proteção (FOESA, 2010). Isso se deve a forma como ocorrem os cultivos aquícolas, que utilizam recursos da natureza, como os hídricos, e interferem direta e indiretamente nos ciclos biogeoquímicos dos ecossistemas.

Apesar de todo esse arsenal de legislação nacional e internacional voltados para os direitos dos trabalhadores a um trabalho decente, assim como, para a produção aquícola sustentável, poucos estudos se dedicam ao tema. Além disso, há poucos registros de fiscalizações na área.

A MARICULTURA E O MEIO AMBIENTE DE TRABALHO EQUILIBRADO

A exploração desenfreada dos recursos aquáticos e animais marinhos dos últimos séculos levou a um desequilíbrio ambiental global. Frente a isso medidas de prevenção e proteção iniciaram com a finalidade de diminuir esse desequilíbrio, umas delas é o investimento na aquicultura. Nas últimas décadas a aquicultura apresentou excelentes índices de crescimento internacional, poupando a extração (pesca) de animais e os riscos de comprometimento do ecossistema marinho. Em 2018, mais recente levantamento realizado pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), a Aquicultura já era responsável por 46% da produção total de alimentos de origem animal aquática (aquicultura e pesca). Sendo destinados 88% do total exclusivamente para a alimentação humana (FAO, 2020).

Desse modo, a Aquicultura tornou-se uma alternativa para produção de alimentos saudáveis, com baixo custo de produção, gerando emprego e renda, colaborando com a diminuição de outros problemas humanitários: fome, desemprego e renda (SUPLICY, 2019). Ou seja, a Aquicultura vem mostrando elevado potencial para colaborar na diminuição de impactos econômicos e sociais.

O Brasil por sua vez, apresenta elevado potencial para desenvolvimento de produção aquícola, levando em conta aspectos como o extenso território nacional e o extenso litoral (mais de 7 mil km de costa). Ainda, outras condições colaboram com o desenvolvimento da atividade como clima, qualidade da água e do solo (MARQUES et al., 2019). No entanto, apesar do grande potencial natural do país, a atividade ainda está em desenvolvimento, se comparada a outros países.

No Brasil a Aquicultura se divide basicamente em cultivo peixes, para consumo e ornamentais, cultivo de crustáceos (camarões) e cultivo de moluscos (maricultura). O país atualmente é o segundo maior produtor de moluscos da América Latina, sendo apenas nessa categoria que recebe destaque de produção. Até 1990 o Brasil não produzia comercialmente moluscos e até mesmo o consumo desses animais era tímido. No entanto, por uma parceria entre a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) iniciou um desenvolvimento de pesquisa e extensão na área. A época o

foco principal era subsidiar aos pescadores artesanais uma segunda fonte de renda, nos períodos de entressafra da pesca e promover uma fonte de alimento e renda para o mesmo público e a sociedade local (SUPLICY, 2019).

Nos últimos 30 anos a atividade de maricultura cresceu vertiginosamente e atualmente Santa Catarina se apresenta como o principal estado maricultor, detendo 97% da produção nacional e sendo o segundo maior produtor da América Latina. A produção de 2018 correspondeu a 14.214,5 toneladas de moluscos (entre mexilhão, ostras e vieiras) e com uma movimentação financeira bruta de aproximadamente R\$ 71.000.000,00 para o estado catarinense (EPAGRI, 2019). Ressalta-se que o Brasil, apesar de ser destaque na América Latina, representa um porte artesanal frente a produção global. No entanto, mesmo assim, a produção de moluscos contribui significativa para a economia, para distribuição de renda e para o desenvolvimento social e econômico do estado catarinense, assim como, do país.

Alguns pontos sobre o cultivo de moluscos merecem destaque para o presente estudo, entre eles: ocupa pequeno espaço marinho para produção, grande quantidade de produção de alimento por metro quadrado, tempo entre início e fim da produção é mais rápido que de animais terrestres, o nível nutricional elevado do alimento, não explora agressivamente os recursos naturais, não extrai animais de seus habitats, não ocupa o solo, não desmata, não utiliza insumos e produtos químicos no ambiente natural, não traz contaminações tóxicas a saúde humana e ambiental, não é extrativista.

Apesar de todos os pontos enaltecidos da maricultura, há grande preocupação quanto as condições de trabalhos dos maricultores e quanto ao grau de sustentabilidade realmente empregado nos diversos cultivos. Em virtude da baixa fiscalização e visibilidade que esse tipo empreendimento tem a nível nacional, poucas pesquisas e fiscalizações, ambientais e de trabalho, ocorrem (MARQUES et al., 2019).

Nos Estados Unidos da América (EUA) foi realizada uma pesquisa pelo Centro de Segurança Marítima e Estudos de Saúde dos Estados Unidos, vinculado ao Centro Nacional para Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH), que investigou as condições dos trabalhadores de aquicultura marinha, no período de 2011 até 2014. A pesquisa levantou uma taxa de mortalidade neste grupo específico de 11,9 por 100.000 trabalhadores e um índice crescente de acidentes e doenças ocupacionais, alcançando mais de 5.000 por 100.000 trabalhadores (KAUSTELL et al., 2019).

Em relação a qualidade de vida do trabalhador e suas condições de trabalho, no país temos um alarmante índice de acidentes de trabalho. Conforme pesquisa nacional realizada pelo Instituto Nacional do Seguro Social (INSS), em 2017, houve o registro oficial de 549.405 casos de notificação de acidentes de trabalho. Dos quais 75,5% caracterizaram-se como acidente de trabalho típico, 2,2% como doença ocupacional, 22,3% acidente de trajeto. Ainda, é necessário considerar que esses dados podem estar subnotificados em razão do elevado índice de trabalho informal no país.

Há significativa carência de produção científica dedicada a investigar o desenvolvimento da atividade levando em conta os preceitos do trabalho decente da OIT, que preza pela promoção de um trabalho com liberdade, segurança, equidade, dignidade humana e que mantenha a preservação da saúde (física, mental e psicológica) do trabalhador.

Uma das poucas pesquisas realizadas no Brasil, investigou a segurança empregada nos cultivos aquícolas nacionais, com o objetivo de proteger a integridade física dos trabalhadores. A conclusão foi de que apenas 12% dos participantes da pesquisa, relataram a presença protocolos de segurança em seus locais de trabalhos. E 88% dos entrevistados desconheciam ou ignoravam tais medidas (MARQUES et al., 2019). Entretanto, salienta-se a não abordagem na respectiva pesquisa aos aspectos relativos à saúde mental e emocional dos trabalhadores, associando o bem-estar a um espectro unicamente fisiológico, em discordância ao conceito basilar de trabalho decente da OIT.

No entanto, essa realidade não se confirma em nível internacional, onde há grandes investimentos de vários setores públicos e privados, não apenas em fiscalização como em promoção de qualidade de vida dos trabalhadores nas atividades gerais de aquicultura. Países como Espanha, Portugal, Noruega, Nova Zelândia, EUA, Chile e Austrália possuem leis e programas nacionais de proteção a riscos no ambiente de trabalho da aquicultura e maricultura, além de pesquisas destinadas a qualificar o desenvolvimento da atividade, voltado para a sustentabilidade ambiental e a política do bem-estar social do trabalhador.

Estudos internacionais apontam que o desenvolvimento da atividade, maricultura, apresenta riscos à saúde do trabalhador, ao meio ambiente natural, ao meio ambiente do trabalho. No entanto, no Brasil são escassos estudos direcionados a esse setor, assim como, programas de prevenção a riscos. Na esfera jurídica, o

campo é ainda mais urgente, visto que a legislação atual está voltada para a Agricultura, pouco direcionada as especificidades da atividade aquícola, com elevada deficiência à maricultura.

Neste contexto social, jurídico, ambiental e econômico é urgente o investimento em pesquisas direcionadas a investigar a qualidade de trabalho no setor da maricultura brasileira, buscando paralelos com outros países desenvolvidos, em busca de modelos adaptáveis para o contexto nacional. Esse investimento é necessário para a preservação da vida desses profissionais e conseqüentemente de toda uma sociedade.

O MEIO AMBIENTE DE TRABALHO DECENTE

O Direito do Trabalho nasce com a Revolução Industrial, trazendo o paradigma da uma sociedade baseada na relação de trabalho, emprego, capital e capitalismo. Neste cenário se destacaram três fatores, que promoveram o longo da história o Direito do Trabalho, sendo eles: econômico, sociais e políticos. O primeiro pode ser identificado pela nova forma de organização dos processos produtivos, envolvendo uma relação de emprego com grandes indústrias. O segundo se caracteriza pela concentração de trabalhadores em grandes centros industriais, com o trabalho subordinado especificado. Por fim, o último, revela as pressões políticas da época, organizadas principalmente por trabalhadores, em busca de direitos voltados a proteção do trabalho e dos trabalhadores (DELGADO, 2018). “Nascia, assim, a noção de que a relação de trabalho subordinada não poderia ter como suporte jurídico o Direito Civil, já que as partes nela envolvidas não se encontravam num patamar de igualdade” (SCHAEFER, 2020, p. 209).

A preocupação com o trabalhador, como um ser humano digno de direitos e proteções específicas, foi uma construção morosa e delicada, começando sutilmente como demonstrado anteriormente até marcos históricos mais relevantes, como a criação da Organização Internacional do Trabalho (OIT), com o Tratado de Versailles (1919), da Organização das Nações Unidas (ONU), em 1945, da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 1946, e da aprovação da Declaração Universal dos Direitos do Homem, em 1948. No entanto, a ideia de trabalho decente e meio ambiente do trabalho equilibrado levou ainda mais tempo para se desenvolver.

Segundo Sebastião Geraldo de Oliveira (2011) a preocupação com a saúde e condições de trabalho do trabalhador, passou por uma evolução histórica ao longo do

tempo. Onde a cada etapa se desenvolvia uma compreensão mais ampla sobre todo o fenômeno que envolve a saúde do trabalhador, começando pela medicina do trabalho (1830), onde observou-se a necessidade de manter trabalhadores sadios nas fábricas, com a finalidade de não prejudicar o processo produtivo. O objetivo se restringia em identificar trabalhadores doentes. Com o fim da Segunda Guerra Mundial se passou a fase da saúde ocupacional (1950), onde as atenções se voltaram para a assistência médica do trabalhador, sem intenções de prevenção a acidentes de trabalho ou a doenças ocupacionais. A terceira etapa se caracterizou pela atenção à saúde do trabalhador (1970), onde foram adotadas medidas e normatizações internacionais com o objetivo de prevenir acidentes e doenças do trabalho. Por fim, a última etapa histórica apresenta pelo autor, constitui na preocupação com ampla com a qualidade de vida do trabalhador (1985), ou seja, “pretende-se avançar além da saúde do trabalhador: busca-se a integração deste com o homem, o ser humano dignificado e satisfeito com a sua atividade, que tem vida dentro e fora do ambiente de trabalho, que pretende, enfim, qualidade de vida” (OLIVEIRA, 2011).

Houve um grande processo de evolução a respeito da percepção legal e social sobre o trabalhador e seu ambiente de trabalho, resultando na concepção de trabalho decente e meio ambiente do trabalho equilibrado. Vale destacar alguns diplomas internacionais que colaboraram nesse processo histórico em construção, como o Programa Internacional para Melhorar as Condições de Trabalho e Meio Ambiente de Trabalho (PIACT), 1976; aprovação da Convenção nº 155/1981, pela Conferência Geral da OIT; Convenção nº 161/1985. E a aprovação, pela Assembleia Geral da ONU (1979), da meta social da Organização Mundial da Saúde (OMS).

Nesse íterim a autora Norma Sueli Padilha, que se dedica ao estudo do direito ao meio ambiente do trabalho equilibrado, aponta esse direito como de natureza difusa e coletiva:

Ao transportarmos tal concepção [de meio ambiente] para o meio ambiente do trabalho, podemos então vislumbrá-lo como o ecossistema que envolve as inter-relações da força do trabalho com os meios e formas de produção, e sua afetação no meio ambiente em que é gerada. O meio ambiente do trabalho compreenderia, assim, a inter-relação da força de trabalho humano (energia) e sua atividade no plano econômico através da produção (matéria), afetando o seu meio (ecossistema). (...) A real dimensão do direito ao meio ambiente do trabalho equilibrado não se limita, em absoluto, à relação obrigacional, nem tampouco aos limites físicos dos empreendimentos industriais, uma vez que se está apenas pontuando um dos múltiplos aspectos do meio ambiente e, meio ambiente equilibrado é, por natureza, um direito difuso (PADILHA, 2010c, p. 377)

No Brasil o entendimento quanto a proteção ao meio ambiente do trabalho equilibrado vem ganhando força nas últimas décadas, inclusive com o reconhecimento do Supremo Tribunal Federal, quanto ao meio ambiente como um direito fundamental de terceira dimensão (STF, MS 22.164-SP, Rel. Min. Celso de Mello). O reconhecimento pelo direito ao equilíbrio do meio ambiente de trabalho, está devidamente expresso na Constituição Federal de 1988, diante do novo entendimento extensivo dos arts. 225 e 7º, XXII. Desse modo “toda a sistemática de proteção da qualidade de vida decorrente da legislação ambiental incide hodiernamente sobre o meio ambiente do trabalho”(PADILHA, 2013ª, p. 8609).

É notório todo o esforço, dedicação e perdas submetidas ao trabalhador ao longo de sua jornada de trabalho, o que afeta a sua saúde em múltiplos aspectos. Devendo o ambiente natural ou artificial a qual está submetido ser preservado e potencializado, afim de alcançar e proteger os Direitos básicos humanos do trabalhador e proporcionar a sadia qualidade de vida. Frente a isso, adota-se como base, quanto a meio ambiente equilibrado, os estudo aprofundados da autora Norma Sueli Padilha (BARROS; PADILHA, 2016, 2017; PADILHA, 2010c, 2011, 2012, 2013c, 2015, 2018; SANTOS; PADILHA, 2015), que há mais de uma década se dedica no desenvolvimento e construção dessa teoria.

O trabalho é a principal atividade desenvolvida pelo ser humano, onde busca a sua subsistência social. Por isso, a maior parte da vida o ser humano passa trabalhando e, logicamente, inserido em seu ambiente e contexto laboral. Levando em consideração a tamanha importância na vida do ser humano que o trabalho exerce, necessário se faz uma efetiva intervenção e normatização judicial, afim de proteger a vida e desenvolvimento humano.

Levando em conta essa premissa, a Organização Internacional do Trabalho (OIT) mantém diversos programas de desenvolvimento ao trabalho decente, que busca promover um trabalho com liberdade, segurança, equidade, dignidade humana e que mantenha a preservação da saúde (física, mental, psicológica e psíquica) do trabalhador. José Cláudio Monteiro de Brito Filho (2018), define trabalho decente como “um conjunto mínimo de direitos do trabalhador que corresponde: à existência de trabalho; à liberdade de trabalho; à igualdade no trabalho; ao trabalho com condições justas, incluindo a remuneração, e que preservem sua saúde e segurança” (FILHO, 2018, p.62)

O trabalho decente está associado a fatores como: salubridade, proteção, segurança preservação da saúde, qualidade de vida e ambiente equilibrado. Diante disso, o presente estudo buscou sustentáculo nos programas, convenções e publicações da Organização Internacional do Trabalho (OIT), em conjunto com os estudos de José Cláudio Monteiro de Brito Filho (2018) e Norma Sueli Padilha (BARROS, VERONICA ALTEF; PADILHA, 2017; FILHO, 2018).

Tudo está interligado e de modo indissociável, por isso não há como compreender o trabalho e o trabalhador, sem incluir a sustentabilidade ambiental. Afinal, tudo acontece primariamente em um ambiente natural, mesmo que em segundo plano seja transformado em um ambiente artificial. Nas ciências biológicas se entende como ecossistema, que pode ser trazido de modo análogo para a presente proposta de pesquisa, afim de subsidiar a compreensão do contexto no qual estão inseridos o meio ambiente e o trabalhador.

REFERÊNCIAS

BARROS, VERONICA ALTEF; PADILHA, N. S. Construção sustentável e meio ambiente do trabalho. **Revista do Direito do Trabalho e Meio Ambiente do Trabalho**, v. 2, N2, p. 58–78, 2016.

BARROS, VERONICA ALTEF; PADILHA, N. S. Meio ambiente do trabalho e a indústria da construção sustentável: análise no contexto da sustentabilidade e trabalho decente. **RJLB - Revista jurídica luso-brasileira**, n. Ano 3, nº 4., p. 1435–1463, 2017.

BRASIL. **Consolidação das Leis do Trabalho**. Decreto-lei nº 5.452, de 1º de maio de 1943. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto-lei/del5452.htm. Acessado em 16 de set. 2020.

BRASIL. **NR 31: segurança e saúde no trabalho na agricultura, pecuária silvicultura, exploração florestal e aquicultura**. Disponível em: https://enit.trabalho.gov.br/portal/images/Arquivos_SST/SST_NR/NR-31.pdf. Acessado em 16 de set. 2020.

BRASIL. **Constituição da República Federativa do Brasil de 1988**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicao.htm. Acessado em 16 de set. 2020.

CAPRA, FRITJOF; MATTEI, U. **A revolução ecojurídica: o direito sistêmico em sintonia com a natureza e a comunidade**. 1ª ed. São Paulo: 2018.

COMISSÃO EUROPEIA. **Crescimento Azul**. Disponível em: <https://ec.europa.eu/fisheries/cfp/aquaculture/>. Acessado em 16 de set. 2020.

DELGADO, M. G. **Curso de direito do trabalho**. Ed., 17. ed. São Paulo: 2018.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. Relatório de avaliação dos impactos das tecnologias/ações geradas pela EPAGRI: Desenvolvimento da Malacocultura em Santa Catarina. Florianópolis: **EPAGRI**. 1ªEd. 2019.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action**. Rome. FAO: 2020.

FOESA. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. Definición de indicadores de sostenibilidad en la acuicultura mediterránea. Madrid: **Foesa**, 2010.

FILHO, J. C. M. DE B. **Trabalho decente: Análise Jurídica da Exploração do Trabalho — Trabalho Escravo e outras Formas de Trabalho Indigno**. 6º ed. São Paulo: 2018.

GUERTLER, C. **Fatores de risco associados ao cultivo da ostra *Crassostrea gigas* em Santa Catarina: Uma abordagem ocupacional**. Florianópolis: 2017.

HOLEN, S.M.; UTNE, I.B.; HOLMEN, I.M.; AASJORD, H. Occupational safety in aquaculture – Part 1: Injuries in Norway. Part 2: Fatalities in Norway 1982–2015. **Marine Policy**, n.96, v. 96, p. 184–199, 2018.

INSTITUTO NACIONAL DO SEGURO SOCIAL. **Anuário estatístico de acidente de trabalho**. Brasília: MF, 2017. 996 p.

KAUSTELL, K.O.; MATILLA, T.E.A.; AHVONEN, A.; RAUTIAINEN, R.H. Occupational injuries and diseases in fish farming in Finland 1996–2015. **International Maritime Health**, v.70, n.1, p.47–54, 2019.

MARQUES, F. B. et al. An Online Survey of Occupational Hazards in Brazilian Aquaculture. **Journal of Agromedicine**, v. 24, n. 4, p. 434–440, 2019.

MYERS, M.; DURBOROW, R.; KANE, A.; MYERS, M.L.; DURBOROW, R.M.; KANE, A. S. Gulf of Mexico seafood harvesters, part 2: occupational health-related risk factors. **Safety**, v. v.4, n.27, p. 1–17, 2018.

MYERS, M.L.; DURBOROW, R. M. Aquacultural safety and health. In: Carvalho, E. (Ed.). **Health and Environment in Aquaculture**. InTech, Croatia., 2012.

NGAJILO, D.; JEEBHAY, M. F. Occupational injuries and diseases in aquaculture – A review of literature. **Aquaculture**, v. 507, nº 30, p. 40–55, 2019.

OLIVEIRA, S. G. DE. **Proteção jurídica à saúde do trabalhador**. 6ª ed. São Paulo: 2001.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Agenda 2030 de Desenvolvimento Sustentável**. Disponível em: <http://www.agenda2030.org.br/>. Acessado em 16 de set. 2020.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO TRABALHO. **Trabalho decente no Brasil**. Disponível em: <http://www.ilo.org/brasil/temas/trabalho-decente/lang--pt/index.htm>. Acessado em 16 de set. 2020.

PADILHA, N. S. O saber ambiental na sua interdisciplinaridade: contribuição para os desafios do direito ambiental. **Anais do XIX Encontro Nacional do CONPEDI realizado em Fortaleza - CE**, p. 1965–1972, 2010a.

PADILHA, N. S. Meio ambiente do trabalho: o espaço de diálogo interdisciplinar entre o direito do trabalho e o direito ambiental. **Revista do Tribunal Regional do Trabalho da 15ª Região**, v. 36, 2010b.

PADILHA, N. S. **Fundamentos constitucionais do direito ambiental brasileiro**. 1ª ed. Rio de Janeiro: 2010.

PADILHA, N. S. O equilíbrio do meio ambiente do trabalho: direito fundamental do trabalhador e de espaço interdisciplinar entre o direito do trabalho e o direito ambiental. **Revista do Tribunal Superior do Trabalho**, v. 77, nº 4, p. 231–258, 2011.

PADILHA, N. S. A leitura principiológica do direito do trabalho na nova hermenêutica constitucional: Uma análise de colisão de valores frente à Súmula nº 331 do TST. **Revista do Tribunal Superior do Trabalho**, v. 78, nº 2, p. 153–181, 2012.

PADILHA, N. S. O direito fundamental do trabalhador ao equilíbrio do meio ambiente do trabalho: um espaço interdisciplinar entre o direito do trabalho e o direito ambiental. **RIDB - Revista do Instituto do Direito Brasileiro**, n. Ano 2, nº 8, p. 8587–8625, 2013a.

PADILHA, N. S. Meio ambiente do trabalho: um direito fundamental do trabalhador e a superação da monetização do risco. **Revista do Tribunal Superior do Trabalho**, v. 79, nº 4, p. 173–182, 2013b.

PADILHA, N. S. Os fundamentos principiológicos do direito do trabalho e a colisão de valores: o princípio protetor na teoria dos princípios. **RIDB - Revista do Instituto do Direito Brasileiro**, n. nº 7, p. 7382–7420, 2013c.

PADILHA, N. S. O compromisso constitucional brasileiro com a sustentabilidade ambiental. In: LIBERARS (Ed.). **Direito e Desenvolvimento: estudos sobre a questão ambiental e a sustentabilidade - Homenagem ao Prof. Marcio Teixeira**. In: Caio Henrique Lopes Ramiro e Lis Maria Bonadio Precipito. (Org.). 1º ed ed. São Paulo: 2015. p. 83–95.

PADILHA, N. S. Agrotóxicos e a saúde do trabalhador: a responsabilidade por contaminação do meio ambiente do trabalho. **RJLB - Revista Jurídica Luso-Brasileira**, n. Ano 4, nº 6, p. 977–1006, 2018.

PADILHA, N. S.; SANTOS, G. A. DOS. A prevenção dos riscos ambientais na indústria do abate e processamento de carnes e derivados: a saúde coletiva e dos trabalhadores. **Revista Eletrônica do Curso de Direito da UFSM**, v. 10, n. 1, p. 149–174, 2015.

ROCHA, Julio Cesar de Sá da. **Direito ambiental do trabalho: mudanças de paradigma na tutela jurídica à saúde do trabalhador**. 2. ed. São Paulo: Atlas, 2013.

SARLET, INGO WOLFGANG; FENSTERSEIFER, T. **Direito constitucional ambiental: constituição, direitos fundamentais e proteção do ambiente**. 4^a ed. São Paulo: 2014.

SARLET, I. W. A proibição do retrocesso ecológico e as mudanças no Ministério do Meio Ambiente. **Conjur: Consultor Jurídico**, 2019.

SCHAEFER, L. DE A. G. Apontamentos sobre o meio ambiente do trabalho e as novas formas de prestação do trabalho. **Revista do Tribunal Superior do Trabalho**, v. 86, no 1, p. 207–222, 2020.

SUPLICY, F. M. **Plano Estratégico para Desenvolvimento Sustentável da Maricultura Catarinense (2018- 2028)**. 1^o ed. Florianópolis: 2019.