MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PEIXES CONTINENTAIS
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA-PIBIC/ICMBio

Relatório Final

Identificação de enfermidades parasitárias em espécies de peixes ameaçadas de extinção em ambiente "ex situ".

Bolsista: William Silva Oliveira
Orientador: Dr. Paulo Sérgio Ceccarelli

PIRASSUNUNGA - SP

Julho de 2012

RESUMO

Estudos que visem à implementação de medidas de conservação, tais como a manutenção de espécies ameaçadas em ambientes “ex situ”, formação de bancos genéticos e a elaboração de Planos de Ação para as espécies ameaçadas, tornam-se fundamentais para a manutenção da biodiversidade. Porém, o maior entrave para a manutenção dessas espécies, principalmente quando selvagens, é a falta de tecnologia desenvolvida especialmente para o período de adaptação desses peixes em ambiente “ex situ”, quando os peixes ficam mais estressados, porém menos resistentes, e com isso mais susceptível a contraírem enfermidades e em consequência virem a óbito. Diante desse contexto, essa pesquisa visou à identificação das doenças que acometem os espécimes de *Brycon orbignyanus*, espécie ameaçada de extinção, durante a fase de adaptação em laboratório e em viveiros e tanques de manutenção de espécies de peixes ameaçadas de extinção do CEPTA. Esse modelo em elaboração, no qual utilizamos a espécie *B. orbignyanus* poderá ser ajustado para qualquer espécie peixe ameaçada de extinção.

Durante o período de julho de 2011 a julho de 2012, foi realizado acompanhamento do aspecto sanitário de piracanjubas (*B. orbignyanus*) em viveiros do CEPTA. Foram feitos exames parasitológicos a fim de diagnosticar os parasitas que podem se associar a essa espécie e consequentemente causar enfermidades podendo até provocar a morte dos animais. Foram encontrados Monogenéticos, Mixosporídeos, *Procamallanus* sp., *Contracaecum* sp. *Lernaea cyprinacea* e *Piscinoodiniun* sp.

ABSTRACT

Studies aimed at the implementation of conservation measures, such as maintenance of endangered species in "ex situ" environments formation of gene banks and the development of Action Plans for endangered species, become fundamental to maintaining biodiversity. But the biggest obstacle to the maintenance of these species, especially when wild, is the lack of technology developed especially for the period of adaptation of these fish in the "ex situ" environment, when these fishes become more stressed, less resistant, and thus more likely to contract diseases and consequently come to death. In this context, this research aims to identify the diseases that affect the specimens of *Brycon orbignyanus*, an endangered species, during its adaptation phase in laboratory tanks and in ponds and maintenance of fish species threatened of extinction in CEPTA. This development model, in which we used species *B. orbignyanus* can be adjusted for any fish species threatened of extinction.

During the period July 2011 to July 2012, was carried out monitoring of the health aspects of piracanjubas (*B. orbignyanus*) in nurseries of the CEPTA. Parasitological examinations were done to diagnose parasites that may be associated with this species and cause disease and may even cause death of animals. Monogeneans were found, myxosporean, *Procamallanus* sp., *Contracaecum* sp. *Lernaea cyprinacea* and *Piscinoodiniun* sp.

LISTA DE SIGLAS

CEPTA – Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais.

ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade.

MMA – Ministério do Meio Ambiente.

PIBIC – Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Cientifica.

USP – Universidade de São Paulo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Area de distribuição das piracanjubas na Bacia do Plata, das piracanjubas (*B. Orbgnyanus)*. As setas indicam as localizações desta espécie. Fonte: (http://www.riosvivos.org.br). Acessado no dia 12/01/2012 13

Figura 2 – Exemplar de Piracanjuba *B. orbgnyaus* (Valenciennes, 1849), coletado nos viveiros do CEPTA/ICMBio. Foto: William Silva Oliveira, 2011. 14

Figura 3 - Foto aérea mostrando as quatro áreas de tanques e viveiros no CEPTA: A, B, C e D. Na área D onde estão localizados os exemplares de *Brycon orbgnyanus*, o destaque para os viveiros número 19 (seta azul), e 3 (seta verde) indica os viveiros onde ocorreram manifestação de parasitos acompanhado de ocorrência de mortalidade. Foto: Arquivo do Google. 20

Figura 4 - Laboratório de Necropsia e triagem de material biológico CEPTA/ICMBio. 25

Figura 5 – Laboratório de analises em ecologia parasitaria no CEPTA/ICMBio, também adaptado para o manuseio histológico. Foto: William Silva Oliveira (2011) 26

Figura 6 – Imagem exemplificando a amostra do órgão cortado em 0,5cm, para desidratação. Foto: William Silva Oliveira (2011). 27

Figura 7 - Estomago coletado na piracanjuba, mostrando uma grande úlcera (seta) na região fúndica. Material coletado para histologia. Foto: William Silva Oliveira (2011)..... 27

Figura 8 - Pele e músculo, coletados para histologia. Foto: William Silva Oliveira (2011)... 28

Figura 9 – Imagem demonstrando o material histológico e a bateria de todos em álcoois. Foto: William Silva Oliveira (2011)..... 28

Figura 10 – Material histológico incluído no molde de parafina para secagem. Foto: William Silva Oliveira 2011..... 29

Figura 11 – Exemplares de peixes moribundos e em óbito, através da infestação por protozoário *Piscinoodinium* sp. Foto: William Silva Oliveira (2012) 31

Figura 12 – Protozoário *Piscinoodinium pillulare* parasitando exemplares de *B. orbignyanus* em viveiros de espécies ameaçadas do CEPTA/ICMBio. A) durante a fase de trofonte (seta) com seu corpo periforme e com coloração castanho-amarelado encontrado através de uma raspagem de muco.B e C) durante a fase tomonte com formato esférico (seta). Foto: Bruno Uili Ribeiro (2012) 32

Figura 13 – Monogenético fixado com formalina 5% montado em meio de Hoyer (seta). Indivíduo encontrado parasitando *B orbgnyanus*, no CEPTA/ICMBio. Foto: William Silva Oliveira, (2011). 33

Figura 14 - Brânquias apresentando uma coloração vermelho intenso e mucificada devido ao grande número de parasitas, esse material foi colhido para histologia. Foto: William Silva Oliveira (2011) 33

Figura 15: Alto grau de infestação de cistos de mixosporídeos (Mx); podemos ver lamelas branquiais hiperplásicas (Hiper), hipoplásicas (Hipo) e algumas fundidas (Lf) pela infecção proporcionada por esta paresitemia. 34

Figura 16– Nematóide do gênero *Contracaecum* sp,(seta) encontrado em exemplares de *B. orbgnyanus* e fixado em formalina 5%. No laboratório de ictiopatologia no CEPTA/ICMBio Foto: William Silva Oliveira (2011) 35

Figura 17– Nematóide do gênero *Procamallanus* sp, encontrado parasitando *B orbgnyanus*.Fixado em formol 5% no laboratório de ictiopatologia no CEPTA/ICMBio. A seta indica a região anterior do parasita. Foto: William Silva Oliveira. (2011) 35

Figura 18 - Ciclo de vida da *Lernaea*. FONTE: KUBITZA & KUBITZA (2004). 36

Figura 19: Estomago com aspecto de normalidade em sua organização geral, sem infecção por algum tipo de parasita. Podemos observar a camada da mucosa (CMU), Submucosa (CSMU) e muscular (CMUS), visualizando também um grande vaso sanguíneo (VS). . 38

Figura 20: Foto mostrando a interação direta do parasita (seta), visualizando assim sua ação destrutiva na mucosa do estômago. 39

Figura 21: Visão geral das brânquias controle, sendo as lamelas secundárias representadas por “LS” e as lamelas primárias por “LP”. 40

Figura 22: Visão geral das brânquias infectadas; notamos a presença de lamelas hiperplásicas, lamelas fundidas e uma grande concentração de cistos (seta branca), note-se uma hiperplasia de células da mucosa (seta preta), fato esse que ocorreu por uma possível aderência de matéria orgânica causando assim dispinéia e morte dos peixes..... 40

Figura 23 - Esquema ilustrativo mostrando a variação dos sais e a osmorregulação em peixes de água doce. Fonte: KUBITZA; 2007 48

Lista de Tabelas

Tabela 1–. Distribuição geográfica de nove espécies do Gênero *Brycon*.

Tabela 2 –. Exemplo de preenchimento hipotético do formulário de acompanhamento das espécies de peixes ameaçadas de extinção existentes no CEPTA, Pirassununga, SP.

Tabela 3- Demonstrativa da bateria de Álcool e Xilol.

Tabela 4 - Parasitas observados e coletados em piracanjuba *B. orbgnyanus*, em viveiros do CEPTA/ICMBio.

SUMÁRIO

RESUMO 1

ABSTRACT 2

LISTA DE FIGURAS 4

1- INTRODUÇÃO 9

1.1- A BACIA DO PLATA 12

1.2 - PIRACANJUBA: ESPÉCIE-ALVO 14

2. MATERIAL E MÉTODOS 19

LOCALIZAÇÃO E PROCEDIMENTOS DE ROTINA NOS VIVEIROS DE MANUTENÇÃO DE ESPÉCIES DE PEIXES EM AMBIENTES "EX SITU" NO CEPTA. 19

2.1 - PROCEDIMENTOS PARA COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE ECTOPARASITOS 22

2.2 - PROCEDIMENTOS PARA COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE ENDOPARASITOS 22

2.3 - EXAME DE ÓRGÃOS INTERNOS 23

2.4 - ANÁLISES HEMATOLÓGICAS 24

2.5 - ANALISES HISTOLÓGICAS DE ÓRGÃOS COM POSSÍVEIS GRAUS PARASITOLÓGICOS. 25

2.6 - FIXAÇÃO 26

2.7 - INCLUSÃO 29

3- RESULTADOS 30

3.1 - *PISCINODINIUM* 31

3.2 - MONOGENÉTICOS 32

3.3 - MIXOSPORÍDEOS 34

3.4 - NEMATODA 34

3.5 – *LERNAEA CYPRINACEA* L. 35

3.6 - ENFERMIDADES MICÓTICAS 37

3.7 - RESULTADOS DA ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DE FRAGMENTOS DE TECIDOS E ORGÃOS DE PIRACANJUBA (B. ORBIGNYAUS) 37

4- DISCUSSÃO 40

4.1 - MANEJO INTEGRADO DE ESPÉCIES AMEAÇADAS 49

4.2 - DESAFIOS DA REINTRODUÇÃO DE ESPÉCIES NATIVAS NO BRASIL 53

5. CONCLUSÕES 57

6. AGRADECIMENTOS 57

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS 58

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 59

1- Introdução

A ictiofauna da região Neotropical é a mais diversificada no mundo, com aproximadamente 5.000 espécies descritas (Reis et al., 2003; Buckup et al., 2007). Entretanto as estimativas atuais para esse número de espécies tendem a aumentar, pela ampla diversidade de ambientes presentes e razões que envolvem fatores históricos e ecológicos na América do Sul (Schaefer, 1998; Vari & Malabarba, 1998).

Por estarem restritos a corpos d'água limitados por barreiras geográficas, os peixes de água doce constituem um excelente grupo para investigar eventos biogeográficos e evolutivos (Castro, 1999). Entre os vertebrados, os peixes de água doce oferecem um registro único dos eventos biogeográficos pretéritos, devido ao tipo de limitação à dispersão imposta por seu meio ambiente.

Com o crescimento demográfico vertiginoso, nas últimas duas décadas o meio ambiente que na sua formação demorou milhões de anos vem sofrendo impactos por atividades antrópicas ilícitas e conflituosas, que de maneira muito rápida está desestabilizando esse sistema e, nesse momento é impossível de prever com precisão as magnitudes desse desarranjo.

A exploração indevida dos recursos naturais contribui para redução da cobertura florestal e aceleração do processo erosivo com carreamento de nutrientes minerais e orgânicos para os mananciais, o que diminui a qualidade das águas e pode causar assoreamento dos sistemas aquáticos. Este processo promove a redução de populações, a perda da variabilidade genética e o aumento da probabilidade de extinção em cadeia de espécies de peixes.

Os demais animais da fauna aquática e terrestres também são afetados, portanto, a manutenção da biodiversidade está comprometida, ao nível de despertar uma preocupação

mundial que deve ser discutida em busca de alternativas e, ações sustentáveis possam ser propostas.

Uma das maneiras para preservação dessas espécies ameaçadas é a formação e manutenção em viveiros "*"ex situ""* mantendo todas suas características genéticas e comportamentais para uma possível reintrodução dessas espécies em seus ambientes de origem. Porém a manutenção de espécies de peixes em cativeiro não é uma tarefa fácil exigindo um conhecimento do comportamento das espécies em seu ambiente natural e sua adaptação em ambientes controlados.

A formação e manutenção de peixes em viveiros "*"ex situ""* não têm somente importância para preservação da variabilidade genética da espécie para um possível reforço de estoque no ambiente natural de origem; mas também é utilizado para investigar melhores condições sanitárias para as espécies criadas em cativeiro, que quando selecionadas para produção ficam vulneráveis quanto a sua rusticidade ao meio e, por conseguinte a sua resistência a enfermidades comuns do manejo em cativeiro, muitas vezes provocadas por estresse de manipulação. Fato este, pode ser comprovado na expansão industrial da aqüicultura, aonde as enfermidades vêm emergindo com desastrosas conseqüências econômicas. As perdas por enfermidades estimadas para aqüicultura mundial são da ordem de US$ 8 Bilhões por ano, o qual representa 15% do valor gerado pela produção aquicola mundial (Enright, 2003).

No Brasil a falta de trabalhos sobre prevenção e tratamento das enfermidades de peixes tem sido um dos principais entraves no desenvolvimento da atividade. Esse problema da falta de tecnologia no controle das enfermidades na aqüicultura é muito mais grave quando se trata de espécies de peixes nativos brasileiros mantidos em cativeiro, pois pouco se conhece sobre a biologia dessas espécies. Durante esta fase de adaptação os peixes ficam mais estressados, porém menos resistentes, e com isso mais susceptíveis a contraírem

enfermidades. As mortandades verificadas neste período têm inviabilizado a manutenção, em viveiros “ex-situ”, da maioria das espécies de peixes ameaçadas.

São dados como estes que fazem com que sejam feitos trabalhos de controle de enfermidades, principalmente em peixes mantidos em cativeiros que sofrem qualquer tipo de ameaça de extinção. Os desdobramentos destes problemas terminam na elaboração de um manual para procedimentos de manejo, transporte e manutenção de espécies ameaçadas mantidas em cativeiro.

Estudos que visem à implementação de medidas de conservação, tais como a formação de bancos genéticos e a elaboração de Planos de Ação para as espécies ameaçadas, tornam-se fundamentais para a manutenção da biodiversidade. Partindo dessa realidade, este projeto visa à identificação das doenças que acometem a referida espécie durante a fase de adaptação em laboratório e em viveiros “*ex-situ*” em formação no CEPTA; que naturalmente leva a necessidade da identificação dessas enfermidades e a caracterização das condições em que elas ocorrem resultando em subsídios para o desenvolvimento de técnicas que assegurem a saúde das espécies de peixes ameaçados em cativeiro.

Como exemplo de manutenção de espécies nativas em condições “ex situ” em cativeiro pode-se usar as espécies do gênero *Brycon*, pois necessitam de informações urgentes para a melhoria do seu bem estar em seu ambiente de criação. Isso porque as espécies do gênero são sensíveis a pequenas mudanças do meio, fato esse comprovado na piracanjuba *B. orbgnyanus*.

Segundo o Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (MMA, 2008), *Brycon orbgnyanus* recebe o status de “ameaçada”. Isso ocorre por uma combinação de quatro fatores: destruição das florestas ciliares, represamentos, poluição e introdução de espécies.

1.1- A Bacia do Plata

A piracanjuba (*B. orbignyanus*) é espécie de peixe nativa da Bacia do Plata, que estende-se por cinco países, sul do Brasil, sudeste da Bolívia, Uruguai, Paraguai e nordeste da Argentina. Os principais rios que formam a Bacia são os Rios Bermejo, Iguaçu, da Plata, Paraguai, Paraná, Pilcomayo, Tietê e Uruguai. Estes rios, em combinação com uma desenvolvida rede de transporte rodoviário, conectam áreas de produção intensiva aos portos e centros regionais de consumo (GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2000).

O território da Bacia compreende as capitais de quatro dos cinco países ribeirinhos: Asunción, Brasília, Buenos Aires e Montevidéu. Aproximadamente 60% da população total dos cinco países residem entorno da Bacia (CORDEIRO, 1999). A fim de prover a energia demandada pelo crescimento econômico e demográfico, mais de 130 barragens foram construídas na Bacia, como Salto Grande, Itaipu e Yacyretá.

A Bacia (Figura 1) compreende diversos ecossistemas, desde o Pantanal, considerado o ecossistema de área úmida mais extensa do planeta, até a Mata Atlântica, o Chaco e a Savana. Por outro lado, a região está padecendo de graves problemas ambientais, como a erosão, sedimentação e contaminação da água e do solo, sendo consideradas áreas críticas a Bacia do Alto Paraguai, a do Pilcomayo, do Bermejo, a da Lagoa Mirim e a região do Chaco (CORDEIRO, 1999).

Figura 1 – Area de distribuição das piracanjubas na Bacia do Plata, das piracanjubas (*B. Orbgnyanus)*. As setas indicam as localizações desta espécie. Fonte: (http://www.riosvivos.org.br). Acessado no dia 12/01/2012

1.2 - Piracanjuba: espécie-alvo

A Piracanjuba (*B. orbgnyaus*) (Figura 2) está incluída, segundo Britiski et al. (1984, 1988), na subfamília Bryconinae, família Characidae da ordem Characiformes. Entretanto sua disposição sistemática não é unânime, pois o próprio gênero é mal definido e pode ser reconhecidos por uma combinação de caracteres pouco consistentes, alguns destes sendo também compartilhados por outros caracídeos neotropicais (Britski et al., 1988; Wasko, 2000).

,

Figura 2 – Exemplar de Piracanjuba *B. orbgnyaus* (Valenciennes, 1849), coletado nos viveiros do CEPTA/ICMBio. Foto: William Silva Oliveira, 2011.

Segundo Felizardo (2008) a piracanjuba é uma espécie reofilica encontrada na bacia do Paraná-Uruguai, principalmente nos rios Grande e Paraná (Vaz et al., 2000). Apresenta rápido crescimento, podendo atingir até 80 centímetros de comprimento corporal e 10

quilogramas de massa e a carne, além de aspecto convidativo, apresenta finíssimo sabor (Freato, 2005). É uma espécie arisca, mas muito apreciada na pesca esportiva, motivo pelo qual tem sido muito procurada para o povoamento de tanques em pesque-pagues. .

É uma espécie omnívora, alimentando-se eventualmente de peixes e insetos. O macho reproduz-se a partir de dois anos de idade, com 20 cm de comprimento, apresentando como característica sexual secundária aspereza na nadadeira anal, resultante de pequenas espículas que aparecem na época da reprodução. Já a fêmea, se reproduz a partir do terceiro ano de idade, com 25 cm de comprimento (Vaz et al., 2000).

A piracanjuba apresenta coloração alaranjada e cauda avermelhada com uma faixa preta iniciada no pedúnculo caudal. Esta espécie é sensível a mudanças na dinâmica da água, tendo sua sobrevivência ameaçada pela escassez de alimento alóctone, uma das consequências da redução imposta pelo represamento na proporção entre as áreas terrestres com vegetação e lâmina de água (Cecílio et al., 1997).

As grandes barragens constituem obstáculos intransponíveis na rota migratória desses peixes (Bedore et al., 1999). Essa interrupção no ciclo natural da espécie interfere diretamente no processo reprodutivo, podendo, assim, levar à extinção das espécies nativas da região. Além disto, o segmento do rio abaixo da barragem torna-se regulável para atender às necessidades de geração de energia elétrica, atenuando a ocorrência de grandes cheias em planícies antes alagáveis. Dessa forma, esses habitats não podem mais cumprir seu papel de maternidade e berçário para os peixes de piracema. Dentro do gênero Brycon são nove espécies que sofrem com essa condição (Tabela 1).

Apesar da criação da piracanjuba ainda ser muito pequena (Silva, 2007), existe um grande interesse na utilização deste peixe para o repovoamento de reservatórios hidrelétricos e pisciculturas comerciais. O desenvolvimento da piscicultura com espécies nativas é de grande interesse para a conservação da biodiversidade e se constitui prioridade do IBAMA (Conte et

al., 1995). As técnicas de cultivo estão sendo desenvolvidas ou melhoradas para que sua produção tenha o rendimento adequado para o piscicultor (Silva, 2007).

A reprodução da maioria dos peixes é sazonal, estando geralmente sincronizada com fatores ambientais que se adequem às necessidades metabólicas dos reprodutores de tal forma que incrementem a viabilidade dos gametas e favoreçam o desenvolvimento inicial da prole (Murgas et al., 2003; Oyakama et al., 2006). Essa condição fisiológica que favorece a reprodução é alcançada após eventos migratórios realizados pelos peixes reofílicos, que realizam um deslocamento de centenas de quilômetros que afeta toda sua fisiologia, desencadeando processos essenciais para o preparo da reprodução.

Tabela 1 – Distribuição geográfica de nove espécies do Gênero *Brycon*.
Fonte: CEPTA/ICMBio.

	Espécie	**Bacia**
1.	*Brycon devillei*	Bacias do rio Doce e do rio Jequitinhonha
2.	*Brycon insignis*	Rio Paraíba do Sul
3.	*Brycon opalinus*	Dos rios Doce e Paraíba do Sul
4.	*Brycon ferox*	Rio Mucuri
5.	*Brycon vermelha*	Rio Mucuri
6.	*Brycon nattereri*	Bacia do alto Paraná, ocorrendo nos sistemas do Paranapanema, Tietê, Grande e Paranaíba, alto rio Tocantins (bacia dos rios Tocantizinho e Maranhão) e rio São Francisco (bacia do rio das Velhas, e rio Urucuia)
7.	*Brycon orthotaenia*	Bacia do rio São Francisco
8.	*Brycon orbignyanus*	Bacias dos rios Paraná e Uruguai
9.	*Bryconamericus lambari*	Bacia do rio Caí-Jacuí (RS)

Nos viveiros de piscicultura, a privação deste comportamento migratório impede que esses peixes atinjam a maturação final para a reprodução. Com isso, se faz necessária a

indução hormonal da desova (Murgas et al., 2003), a fim de que os peixes completem seu ciclo reprodutivo no momento desejado e em condições controladas (Woynarovich, 1989).

Embora no Brasil já se consiga quantidades consideráveis de alevinos através da técnica de reprodução induzida da piracanjuba, a manutenção de exemplares selvagens em viveiro e a sobrevivência de reprodutores após desova induzida através de aplicações de hormônio tem sido muito baixa. Segundo Ganeco & Nakaghi (2003) essa alta taxa de mortalidade de reprodutores, provavelmente ocorre pelo estresse de manejo, que é identificado pela grande descamação, seguida de morte.

Segundo Ceccarelli (*com.pess.*) a sobrevivência de piracanjubas após sofrerem o manejo de desova induzida tem sido em torno de 30%, considerando que a piracanjuba para se tornar adulta demora no mínimo 3 anos; que a mortalidade durante o transporte é muito alta; que é uma espécie susceptível a doenças quando mantida em cativeiro, e que a sobrevivência de reprodutores é baixa após o processo de desova induzida. Estes fatores tem constituído o entrave da manutenção dessa espécie em cativeiro principalmente quando se trata de reprodutores selvagens em ambientes "*"ex situ"*". Essa alta mortalidade de reprodutores da piracanjuba após desova induzida também é observado para outras espécies do gênero *Brycon*.

Por considerar a piracanjuba um peixe sensível a mudanças ambientais quer no ambiente natural como em cativeiro, esse trabalho propõe a sua utilização como espécie alvo. Os estudos sobre identificação de enfermidades e caracterização das condições em que elas ocorrem subsidiarão a elaboração de um manual de procedimentos adequados para o desenvolvimento de técnicas de controle das principais doenças, viabilizando a manutenção da *B. orbgnyanus* em ambientes "ex situ".

Nos viveiros de manutenção de espécie de peixes ameaçadas do CEPTA, outras espécies ameaçadas como a *B. vermelha*, *B. insignis*, *Steindachneridion parahybae;* estão

sendo mantidos, além de espécies sobrexplotadas e que figuram nas listas de espécies regionais como a piraiba (*Brachyplatystoma filamentosum*), pirarucu (*Arapaima gigas*), jundiá (*Leiarius marmoratus*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), curimbatá (*Prochilodus lineatus*), dourado (*Salminus brasiliensis*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho realizado durante o período de estágio foi desenvolvido nas dependências do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais – CEPTA/ICMBio localizado a 21° 55’ 48” latitude Sul e 47° 22’ 28,1” longitude Oeste, no período de julho de 2011 a janeiro de 2012. Esse trabalho foi supervisionado pelo Dr. Paulo Sérgio Ceccarelli e MSc. Julio Cenci de Aguiar pesquisadores do CEPTA/ICMBio.

Localização e procedimentos de rotina nos viveiros de manutenção de espécies de peixes em ambientes “ex situ” no CEPTA.

As áreas destinadas

] aos viveiros de manutenção de espécies de peixes ameaçadas de extinção ex-situ localizam-se nas dependências do CEPTA. Os tanques e viveiros estão distribuídos em quatro áreas e totalizam 130 tanques.

Os tanques e viveiros são abastecidos por duas represas e a água chega até eles por gravidade. Os viveiros de manutenção da *B. orbgnyanus* estão na área D nos viveiros de número 03 e 19 de 500 m² cada, na área A nos viveiros A60, A61 e A62 de 800 m² cada, A34 e A40 de 400 m², e na área c nos viveiros C3 de 400 m² (Figura - 3). Nesses viveiros os peixes estão sendo mantidos em diferentes densidades. No CEPTA a maioria das piracanjubas é proveniente do ambiente natural ou são F1 de origem conhecida e tem como objetivo atendimento ao “Banco Genético”. Atualmente existem aproximadamente 350 exemplares selvagens adultos de piracanjuba provenientes do rio Ivinhema, rio Verde e rio Paraná.

Figura 3 - Foto aérea mostrando as quatro áreas de tanques e viveiros no CEPTA: A, B, C e D. Na área D onde estão localizados os exemplares de *Brycon orbgnyanus*, o destaque para os viveiros número 19 (seta azul), e 3 (seta verde) indica os viveiros onde ocorreram manifestação de parasitos acompanhado de ocorrência de mortalidade. Foto: Arquivo do Google.

Para o controle interno dos viveiros de manutenção de espécies ameaçadas de extinção "ex-situ" (bancos genéticos) é usado formulário próprio, com informações sobre a espécie, localização do viveiro, número de exemplares que lá estão, e nome do pesquisador responsável. A estocagem atual das espécies e respectivas quantidades são registradas conforme tabela abaixo:

Tabela 2 – Exemplo de preenchimento hipotético do formulário de acompanhamento das espécies de peixes ameaçadas de extinção existentes no CEPTA, Pirassununga, SP

Espécie	Viveiro / Área	Nº de exemplares	Responsável Técnico
Espécie A	A 11	9	Pesquisador X
Espécie B	C 13	67	Pesquisador Y
Espécie C	D 02	15	Pesquisador Z

Os tanques e viveiros, onde se encontram estocadas as espécies que compõem os bancos genéticos, têm a qualidade da água monitorada em dias intercalados: quando em situação de normalidade, a água é medida as segundas, quartas e sextas-feiras de cada semana, entre 8:00 e 9:00 horas da manhã. São monitorados os seguintes parâmetros, sendo os dados registrados em fichas apropriadas: oxigênio dissolvido, temperatura e pH,. Em situações extraordinárias (registro de mortalidades, por exemplo), esses parâmetros são monitorados diariamente.

Toda e qualquer anormalidade observada é comunicada imediatamente ao técnico responsável pela área de tanques e viveiros, que deverá adotar as providências cabíveis junto ao pesquisador responsável pela espécie afetada.

Os peixes foram alimentados diariamente com ração extrusada com diâmetro de 2,6 mm, 45% de proteína bruta, 10% de extrato estéreo, 4000 cal.,4% de fibra bruta, 20% de matéria mineral, 10% de umidade e 600 mg e vitamina C, fornecida diariamente 2% da biomassa total dos peixes e durante o período de inverno foi reduzido para 1% .

No CEPTA, os peixes que apresentavam mudanças no comportamento natatório, coloração mais escura do que os normais ou que estavam em óbito, foram retirados da água e levados para o Laboratório de Controle de Enfermidades de Peixes.

As características externas dos peixes coletados, assim como a sua origem, densidade, alimento fornecido e tipo de manejo utilizado nesses ambientes são registrados em formulário específico (formulário anamnésico). Da mesma forma, os resultados da biometria e necropsia foram registrados em fichas especialmente elaboradas para estas atividades, onde foram anotados: nome genérico e específico do peixe examinado; comprimento (cm) e peso (g); data da coleta; órgão parasitado e enfermidade acometida.

2.1 - Procedimentos para Coleta e Identificação de ectoparasitos

Para a análise micótica os peixes moribundos foram analisados mediante exame direto ao microscópio óptico e microscópio estereoscópico de esfregaço a fresco, onde foi possível visualizar o crescimento miscelar típico dos fungos.

2.2 - Procedimentos para Coleta e Identificação de Endoparasitos

Para as análises parasitológicas os peixes foram eutanasiados mediante a transecção da coluna vertebral, (não foram anestesiados para que não ocorresse alteração na fauna dos ectoparasitos, pois este procedimento pode fazer com que estes organismos se desprendam do hospedeiro, inviabilizando a utilização dos exemplares de peixes para estudos de ectoparasitos). Esta metodologia foi aprovada pelo comitê de ético animal da FZEA/USP.

Para a identificação dos ectoparasitos, foi realizado primeiramente um esfregaço de muco de pele e de brânquias, no sentido crânio-caudal. O material coletado foi colocado sobre uma lâmina contendo uma gota de água e, sobre esta, uma lamínula e levado ao microscópio para análise.

Quando verificado a presença de parasitos, para um exame mais detalhado das brânquias, os opérculos foram extraídos por meio de um corte transversal, deixando-se a maior parte das brânquias visíveis para verificação da coloração, presença de manchas, parasitos, integridade dos arcos e quantidade de muco.

Logo em seguida as brânquias foram retiradas dos peixes, sendo os arcos branquiais separados e colocados em um frasco contendo formalina 1:4000. O frasco foi agitado várias vezes para que os endoparasitos se soltem dos filamentos. Os arcos branquiais ficaram nesta solução por cerca de 1 a 2 horas. Posteriormente, o líquido e os arcos branquiais foram lavados e peneirados e o concentrado analisado sob microscópio estereoscópico. Também foi feito uma técnica diferente para soltura dos endoparasitas, os arcos braquiais são separados e

colocados em um frasco contendo água destilada a 60º C, com isso o frasco é agitado lentamente. Esta técnica é aplicada mais na identificação de monogenéticos, pelo fato de sua morfologia após estar em temperaturas altas, geralmente a monogênia fica mais estendida e visível para coleta.

2.3 - Exame de Órgãos Internos

Em continuação, foi feito o reconhecimento dos órgãos internos. Para esse fim, foram retirados os órgãos da cavidade celomática do peixe fixando atenção principalmente na cor e consistência dos órgãos, utilizando-se uma tesoura para um corte começando acima do ânus. A introdução da ponta da tesoura no ânus origina a ruptura do intestino reto e a passagem do líquido intestinal para a cavidade abdominal. O corte foi realizado por entre as nadadeiras ventrais até alcançar a cavidade em que se encontra o coração, separando o septo transverso.

O segundo corte foi feito do ponto de incisão inicial e segue adiante do ânus, traçando um arco na borda superior da cavidade abdominal em direção às brânquias. A porção da parede corporal assim delimitada foi desprendida deixando a vista os órgãos contidos na cavidade abdominal (AMLACHER, 1964). Uma vez descoberta à cavidade abdominal, procedeu-se o reconhecimento dos diversos órgãos nela contidos. Para isso é necessário que se conheça a posição, forma e aspecto dos órgãos das espécies estudadas.

Os endoparasitos encontrados foram retirados dos órgãos com auxílio de estilete, pinça ou conta-gotas e mortos por calor ou frio e preservados em uma mistura de AFA.

Outras técnicas convenientes podem ser utilizadas de acordo com sua classe: Trematódeos (Amato *et al*., 1991), Nematódeas (Travassos *et al*. 1928; Chubb, 1982; Yamaguti, 1963), Monogênias (Travassos, 1920), Cestodas e Acanthocephala, (Ferraz de

Lima, 1994; Ferraz de Lima e Basílio, 1994; Chubb, 1982; Travassos, 1920; Travassos e Kohn, 1965).

2.4 - Análises hematológicas

Para os trabalhos com parâmetros hematológicos foram utilizados 2 espécimes de *B. orbgnyanus*.

A coleta de sangue foi feita imediatamente (até 5 minutos após a captura para evitar alterações nos padrões sanguíneos devido ao estresse do manejo) por punção caudal, com seringas de 1,5 ml contendo heparina sódica 25.000 UI/ml. Após a coleta, usou-se 8µl de sangue para o preparo da extensão (método indireto); a outra parte do sangue foi separada em alíquotas para determinação de número de Eritrócitos (Er), Leucócitos (Lc), Trombócitos (Tb), Hematócrito (Ht), Taxa de Hemoglobina (Hb), Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM).

Após a coleta de sangue foi realizada a biometria de cada peixe, tomando-se seu comprimento total (Ct), comprimento padrão (Cp) e peso (g). Esses procedimentos foram realizados no Laboratório de Hematologia do CEPTA e, as amostras serão analisadas no segundo período do estágio.

2.5 - Analises Histológicas de órgãos com possíveis graus parasitológicos.

Para análises histológicas foram utilizados exemplares de *B orbgnyanus* com infestação presente de parasitos, tanto internamente quanto em partes externas, ex: nadadeiras e pele. O material coletado foi fixado e destinado ao método de inclusão e cortes em parafina e coloração de rotina descrita como segue.

Coleta

A coleta foi prosseguida no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais – CEPTA/ICMBio,no laboratório de Ictiopatologia (Figura 4). Exemplares de *B. orbgnyanus* foram coletados e eutanasiados sem a aplicação de anestésico, pois poderiam ocorrer alterações no padrão histológico. Os procedimentos de corte nos peixes para a obtenção dos órgãos esta descrito no tópico- Exame de órgãos internos, p. 21

Figura 4 - Laboratório de Necropsia e triagem de material biológico CEPTA/ICMBio.
Foto: Wiliam Silva Oliveira (2011).

2.6 - Fixação

O material foi levado para o Laboratório de ictiopatologia do CEPTA/ICMBio (Figura 5), onde alem da fixação foram efetuados os demais procedimentos. Os materiais são cortados em fragmentos de 0,5cm e em seguida colocados em frasco de vidro para a fixação (Figura 6), o principal fator da fixação do material é evitar que as células entrem em autólise (morte celular) mantendo deste modo o mais próximo possível do aspecto das células, tecidos e estruturas como quando em vida. Para a fixação do material coletado foi utilizada a Formalina a 10%, mantendo nela o material por aproximadamente, 24hs; após esse tempo, o material foi submetido a passagens por uma bateria de álcoois (Tabela 3), cuja gradação variou de álcool a 70ºGL até álcool absoluto (Foto 9) cuja finalidade é desidratar por completo o material para a realização das etapas seguintes da inclusão em parafina.

Figura 5 – Laboratório de analises em ecologia parasitaria no CEPTA/ICMBio, também adaptado para o manuseio histológico. Foto: William Silva Oliveira (2011)

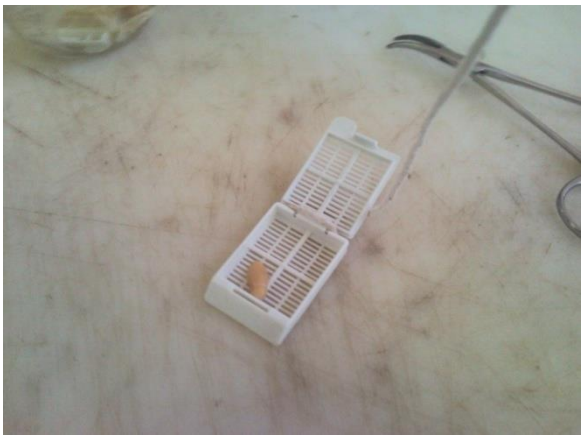

Figura 6 – Imagem exemplificando a amostra do órgão cortado em 0,5cm, para desidratação. Foto: William Silva Oliveira (2011).

Além das parasitoses apresentadas durante as necropsias das piracanjubas foi encontrado um estomago apresentando um processo ulcerativo com necrose acentuado (Figura 7). O material foi coletado e fixado em formalina a 10% para posterior processamento e analise histopatológica.

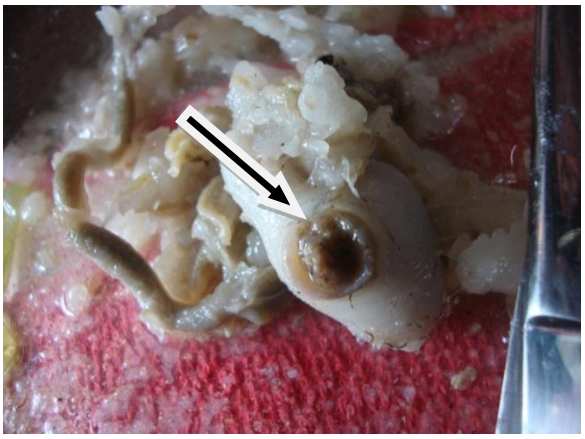

Figura 7 - Estomago coletado na piracanjuba, mostrando uma grande úlcera (seta) na região fúndica. Material coletado para histologia. Foto: William Silva Oliveira (2011)

Foram montados blocos de parafina contendo músculo de piracanjuba com *Lernaeae*, e músculo sadio do mesmo peixe para análise histopatológica (Figura 8) O material coletado foi desidratado e feito inclusão em parafina e esta no Laboratório de Ictiopatologia do CEPTA para realização de cortes histológicos para posteriores análises.

Figura 8 - Pele e músculo, coletados para histologia. Foto: William Silva Oliveira (2011)

Figura 9 – Imagem demonstrando o material histológico e a bateria de todos em álcoois. Foto: William Silva Oliveira (2011).

Tabela 3 - Demonstrativa da bateria de Álcool e Xilol:

Desidratação	**Tempo**
Álcool 70%	30 minutos
Álcool 80 %	30 minutos
Álcool 90 %	30 minutos
Álcool Absoluto I	30 minutos
Álcool Absoluto II	30 minutos
Clareamento	**Tempo**
Xilol I	30 minutos
Xilol II	30 minutos

Totalizando cerca de 3 horas e 30 minutos de processamento do material para histologia, entramos com a inclusão em parafina.

2.7 - Inclusão

A inclusão em parafina é realizada em estufa a 65°C dentro da qual são colocados beckers com pedaços de parafina, com ponto de fusão entre 55°C e 60ºC, portanto liquefeita. Ainda na estufa são feitos dois banhos de parafina, com 1 hora de duração cada um. Em seguida em molde de alumínio ou forminhas de confeitaria que são preenchidas com a parafina e fora da estufa o fragmento do material é colocado, com o lado a ser cortado virado para baixo e espera-se a parafina solidificar (Figura 10).

Figura 10 – Material histológico incluído no molde de parafina para secagem. Foto: William Silva Oliveira 2011

.

3- RESULTADOS

Os exames parasitológicos revelaram a presença do protozoário *Piscinoodiniun* sp., de mixosporídeos, de platelmintos monogenéticos, do copépode *Lernaea cyprinacea* L. e dos nematoides *Procamallanus* sp, *Contracaecum* sp, (Tabela 4).

Tabela 4 - Parasitas observados e coletados em piracanjuba (moribundas) *B. orbgnyanus*, retiradas de viveiros do CEPTA/ICMBio.

Hospedeiro Piracanjuba	**Espécies de parasitas**	**Sítio de infecção**	**Numero de Parasitas**
Peixe-1	Monogenéticos	Arco branquial, brânquias, pele	30
	Procamallanus sp	Intestino	1
	Contracaecum sp	Mesentério	4
	Lernaea cyprinacea	Pele	4
Peixe-2	*Monogenéticos.*	Arco branquial, brânquias, pele	10
	Contracaecum sp	Mesentério	4
Peixe-3	*Monogenéticos*	Arco branquial, brânquias, pele.	25
	Contracaecum sp	Mesentério	2
Peixe-4	*Monogenéticos*	Arco-braquial, brânquias e pele	94
Peixe-5	*Piscinoodiniun pillulare*	Arco-braquial, brânquias e pele	Alto grau de infestação
	Mixosporídeos	Lamelas brânquias	
Peixe-6	*Piscinoodiniun pillulare*	Arco-braquial, brânquias e pele	Alto grau de infestação
	Mixosporídeos	Lamelas brânquias	

O exame parasitológico realizado a fresco da pele e das brânquias das piracanjubas moribundas (Figuras 10), revelou alto grau de infestação de *Piscinoodinium pillulare*, (Figura 11). Nos peixes encontrados mortos devido à alta infestação de *P. pillulare.* não foi possível realizar qualquer análise ictipatológia pelo avançado estado de decomposição dos animais.

Contudo, nos animais moribundos, as análises histopatológicas, revelaram adicionalmente a infestação de cistos mixosporídeos nas lamelas branquiais. A perda total de piracanjubas por enfermidades em viveiros de manutenção do CEPTA, durante o período do estágio, foi de 40 reprodutores.

Figura 11 – Exemplares de peixes moribundos e em óbito, através da infestação por protozoário *Piscinoodinium* sp. Foto: William Silva Oliveira (2012)

3.1 - *Piscinodinium*

Piscinoodinium pillulare (Figura 11) é um protozoário altamente patogênico. Foram encontrados formas trofontes (parasitas), tomontes (forma reprodutiva) e dinosporos (forma dispersiva) em juvenis e adultos de piracanjuba, causando mortandade dos peixes ao fim do inverno, durante o período experimental (julho a dezembro, 2011).

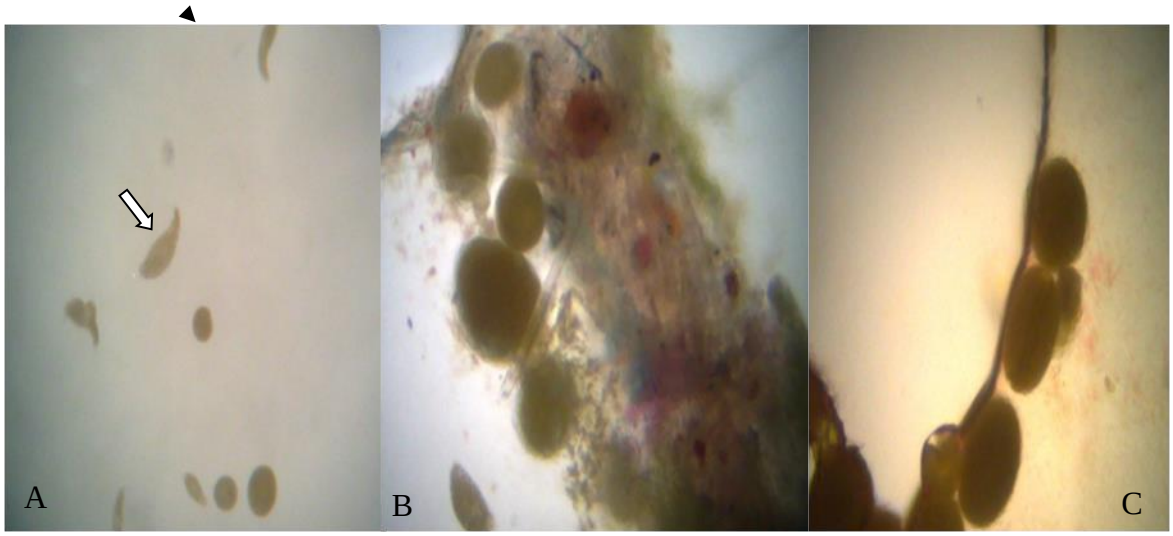

Figura 12 – Protozoário *Piscinoodinium pillulare* parasitando exemplares de *B. orbignyanus* em viveiros de espécies ameaçadas do CEPTA/ICMBio. A) durante a fase de trofonte (seta) com seu corpo periforme e com coloração castanho-amarelado encontrado através de uma raspagem de muco.B e C) durante a fase tomonte com formato esférico (seta). Foto: Bruno Uili Ribeiro (2012)

3.2 - Monogenéticos

Foram detectados monogêneas (Figura 13) em raspado de brânquias de piracanjubas observadas ao microscópio óptico comum. As brânquias apresentavam-se mucificadas, com coloração vermelho intenso e necrosadas (Figura 14). Foi observado que os exemplares de piracanjubas quando acometidas por alto grau de infestação nas brânquias por monogenias, os lábios do maxilar inferior apresentavam-se expandido.

Figura 13 – Monogenético fixado com formalina 5% montado em meio de Hoyer (seta). Indivíduo encontrado parasitando *B orbgnyanus*, no CEPTA/ICMBio. Foto: William Silva Oliveira, (2011).

Figura 14 - Brânquias apresentando uma coloração vermelho intenso e mucificada devido ao grande número de parasitas, esse material foi colhido para histologia. Foto: William Silva Oliveira (2011)

3.3 - Mixosporídeos

Foram encontrados mixosporídeos na visualização das lâminas histopatológicas de brânquias em lamelas branquiais com alto grau de infecção (Figura 15). Os protozoários endoparasitos, tais como os myxosporídeos, formam esporos resistentes que podem conservar sua capacidade de infestação durante anos.

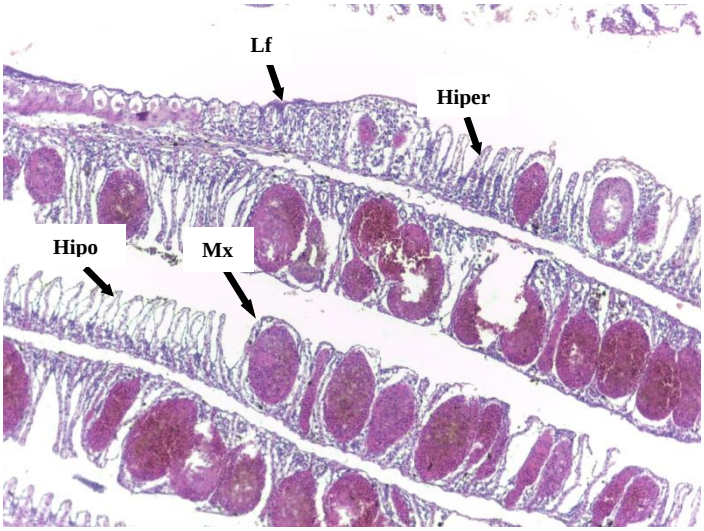

Figura 15: Alto grau de infestação de cistos de mixosporídeos (Mx); podemos ver lamelas branquiais hiperplásicas (Hiper), hipoplásicas (Hipo) e algumas fundidas (Lf) pela infecção proporcionada por esta paresitemia.

3.4 - Nematoda

Nematóides do gênero *Contracaecum* sp (Figura14) e *Procamallanus* sp (Figura 15), têm sido encontrados parasitando exemplares de *B. orbgnyanus.*

Os nematóides são parasitas comuns nos peixes de água doce. Possuem o ciclo de vida complexo, já que a grande maioria das espécies necessita de hospedeiro intermediário, geralmente um crustáceo; para completar seu desenvolvimento.

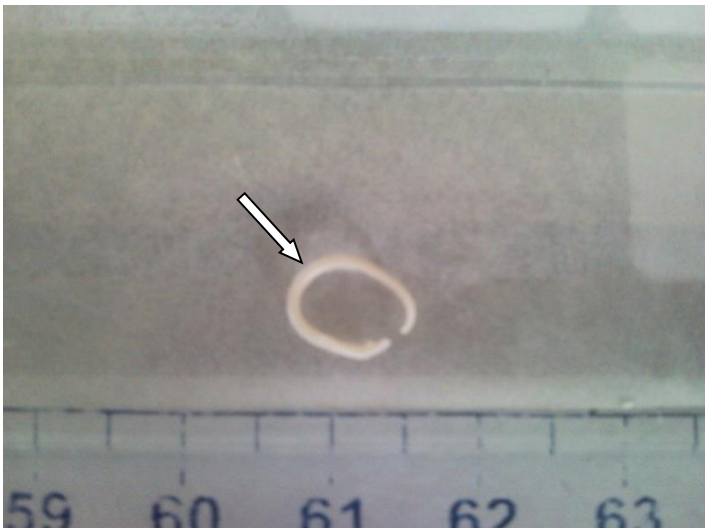

Figura 16– Nematóide do gênero *Contracaecum* sp,(seta) encontrado em exemplares de *B. orbgnyanus* e fixado em formalina 5%. No laboratório de ictiopatologia no CEPTA/ICMBio Foto: William Silva Oliveira (2011)

Figura 17– Nematóide do gênero *Procamallanus* sp, encontrado parasitando *B orbgnyanus.*Fixado em formol 5% no laboratório de ictiopatologia no CEPTA/ICMBio. A seta indica a região anterior do parasita. Foto: William Silva Oliveira. (2011)

3.5 – *Lernaea cyprinacea* L.

Foram encontrados espécimes de copépodes *L. cyprinacea* infestando tegumento de piracanjubas em viveiros de formação de plantel de reprodutores. Segundo Ceccarelli et al (1990) no CEPTA no final da década de 80 esta parasitose vem apresentando problemas de

enfermidade em lambaris (*Astyanax* spp), matrinxã (*Brycon cephalus*), dourado (*Salminus brasiliens*), e a partir de 2006 vem apresentado problemas chegando até provocar mortalidades de piracanjuba *B. orbignyanus* (Ceccarelli comun. pessoal).

Os Lerneídeos foram detectados durante o acompanhamento de rotina e viveiros do CEPTA. No viveiro A47 as piracanjubas acometidas por *L. cyprinacea* apresentavam o seguintes comportamentos: letargia, anorexia, perda de equilíbrio, nado em espiral ou vertical, agrupamento na superfície, respiração agitada (maior batimento opercular), produção excessiva de muco, provocando uma aparência opaca, coloração anormal, apatia, pouco reflexo a estímulos, boqueamento na superfície ou na entrada d'água, e peixes isolados do cardume.

Em um exemplar de piracanjuba examinada pesando 1 quilo foram encontrados 4 lerneas adultas (Figura 18) na superfície corporal do peixe. Posteriormente outras piracanjubas foram encontradas apresentando mais de 15 lerneas na superfície corporal e brânquias.

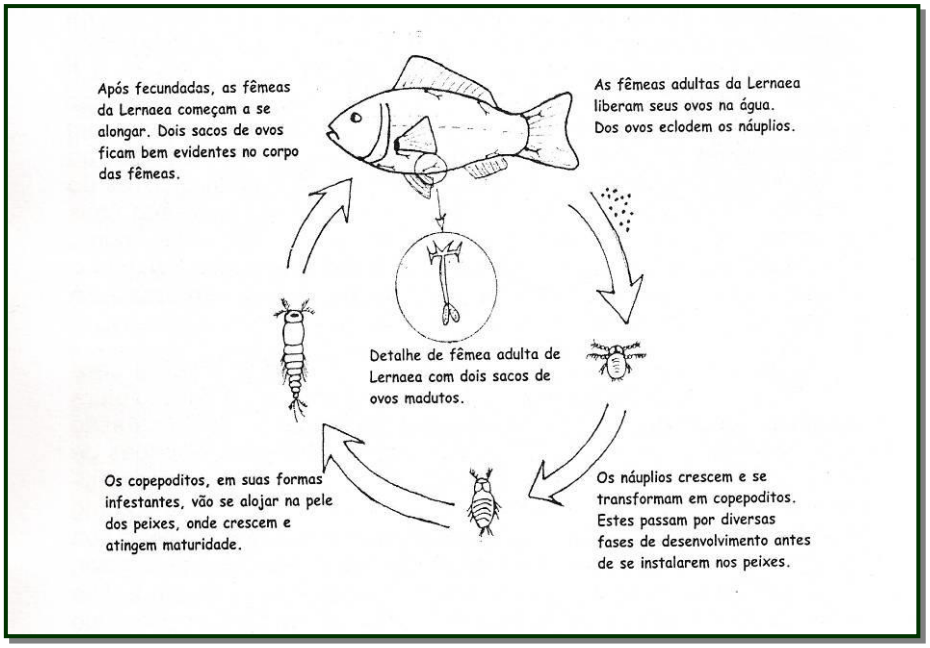

Figura 18 - Ciclo de vida da *Lernaea*. FONTE: KUBITZA & KUBITZA (2004).

3.6 - Enfermidades micóticas

Foi observado presença de fungos em exemplares de piracanjubas quatro dias após a realização de transporte do rio Verde no estado de Mato grosso do Sul até viveiros do CEPTA/ICMBio em Pirassununga/SP. Os peixes pesavam em média 1,5 kg e os exemplares maiores pesavam cerca de 4 kg. É normal que em todo transporte de peixes, ocorram descamações e, no caso de piracanjubas a perda de escamas tem sido muito maior, já que nessa espécie qualquer toque as escamas se soltam. O local de onde saem as escamas fica vulnerável a ocorrência de parasitos, principalmente o da saprolegniose, também conhecida como doença do algodão.

Durante o transporte de 27 exemplares de piracanjubas realizados em 2008 pelo CEPTA apenas 9 exemplares. Em novembro/dezembro de 2011 durante o transporte realizado de 18 exemplares capturados, realizando o mesmo percurso, 17 sobreviveram e se adaptaram com sucesso em viveiros ex situ do CEPTA.

3.7 - Resultados da Análise Histopatológica de Fragmentos de Tecidos e Orgãos de Piracanjuba (B. orbignyaus)

Foi realizada a avaliação histopatológica do seguinte material: pele e musculatura sub-tegumentar, brânquia, estômago, intestino, hepato-pâncreas e coração assim a análise microscópica do material relacionado revelou o que segue.

Pele e musculatura subtegumentar: Na coleta deste material, talvez por se tratar de peixe de escama, o epitélio de revestimento e a derme frouxa (laxa) não estão presentes; a derme compacta está constituída de feixes de fibras de colágeno tipo I, com orientação predominantemente paralela à superfície, além de a linhagem de células fibroblásticas. A musculatura subcutânea é formada por feixes de tecido muscular estriado esquelético apresentando fibras cilíndricas, com múltiplos núcleos periféricos, alternância de estrias claras

(A) e escuras (I) além de inserção perpendicular à superfície tegumentar. Do ponto de vista, alterações histopatológicas não foi verificado nada digno de nota.

Coração e hepatopâncreas: Igualmente com as respectivas organizações parietal (coração) e parenquimatosa (hepatopâncreas) também com aparente normalidade e, portanto, nada digno de nota.

Estômago: A organização geral do órgão camada mucosa, submucosa, muscular e adventícia, foram cuidadosamente examinadas e em todas elas o aspecto é de normalidade (Figura 19).

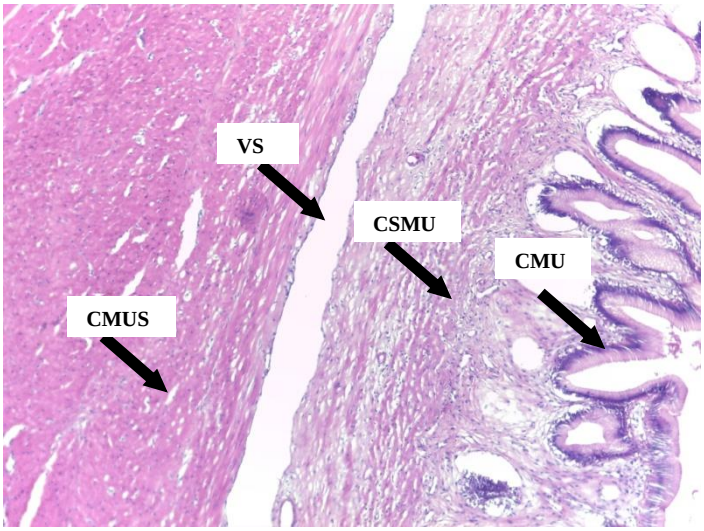

Figura 19: Estomago com aspecto de normalidade em sua organização geral, sem infecção por algum tipo de parasita. Podemos observar a camada da mucosa (CMU), Submucosa (CSMU) e muscular (CMUS), visualizando também um grande vaso sanguíneo (VS).

Estômago/ lesão: Também neste segmento do tubo disgestório, como no estômago normal, a organização parietal é observada. O lumem desta porção apresenta-se repleto de detritos, além da presença de partes de parasitas cortados na microtomia. São constatadas lesões na mucosa, tais como, epitélio com destruição celular, perda da pseudoestratificação, núcleos com cromatina fortemente condensada e lâmina própria completamente ausente. Tais evidências representam uma intensa ação mecânica causada pelos parasitas (Figura 20).

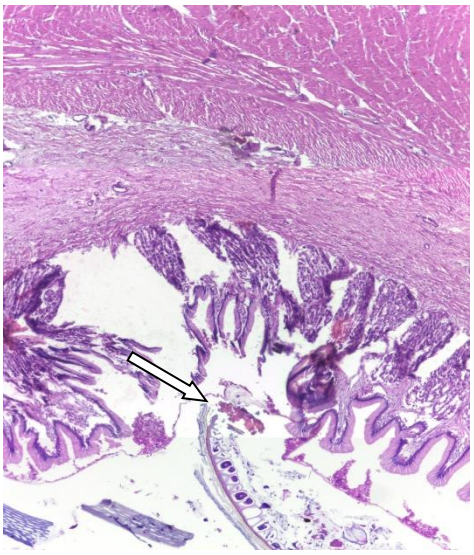

Figura 20: Foto mostrando a interação direta do parasita (seta), visualizando assim sua ação destrutiva na mucosa do estômago.

Brânquia: Este órgão foi deixado, propositadamente, para a descrição final por se tratar de estrutura em contato com o meio ambiente, pertencer ao sistema respiratório (troca de gases) e metabolismo do animal, pode traduzir parte ou o todo de alterações comportamentais e sintomas de moléstias causadas por ectoparasitas. À microscopia nota-se lamelas branquiais hiper, hipoplásicas e algumas fundidas, vasos congestos, aparente e discreta hemorragia (pode ser resultado da coleta deste material), presença de mixosporídeos, hiperplasia de células mucosas, além de infiltrado linfoplasmocitário caracterizando um estado de cronicidade da infecção que se estabeleceu nas brânquias (Figura 22). Quando normais ou pouco afetadas é possível verificar-se uma citologia (células pavimentosas do epitélio de revestimento, células pilares, vasos com congestão passiva ou resultado de longo período de infecção); tecidos de sustentação: cartilagem hialina e osso compacto sem alterações aparentes (Figura 21).

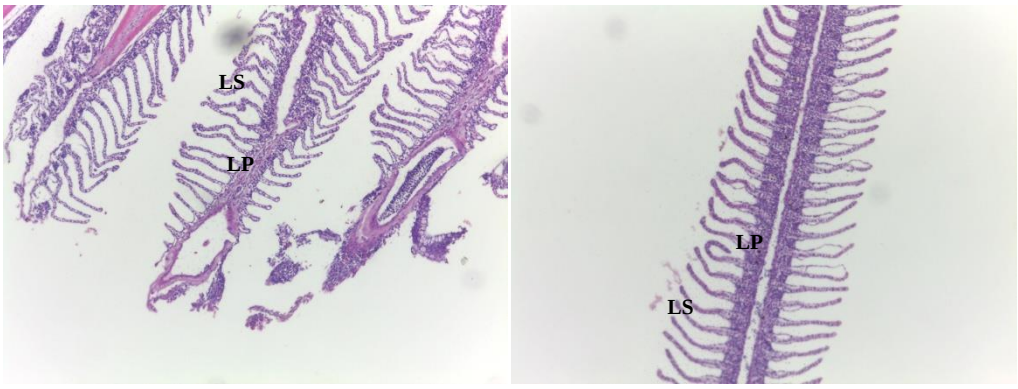

Figura 21: Visão geral das brânquias controle, sendo as lamelas secundárias representadas por "LS" e as lamelas primárias por "LP".

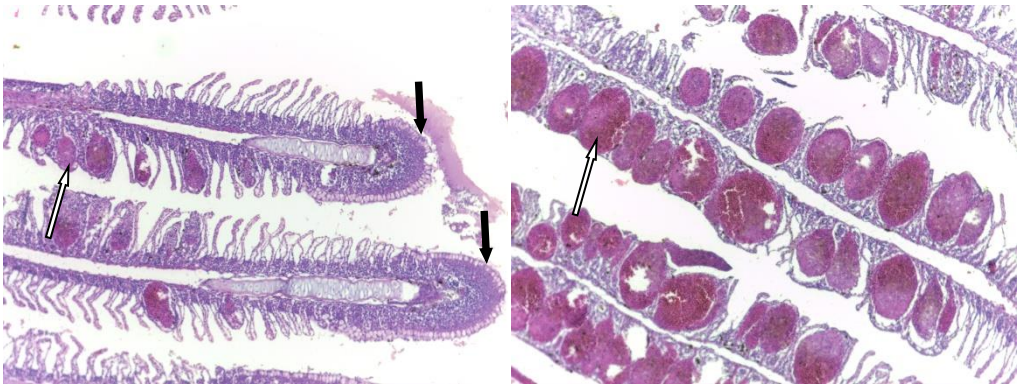

Figura 22: Visão geral das brânquias infectadas; notamos a presença de lamelas hiperplásicas, lamelas fundidas e uma grande concentração de cistos (seta branca), note-se uma hiperplasia de células da mucosa (seta preta), fato esse que ocorreu por uma possível aderência de matéria orgânica causando assim dispinéia e morte dos peixes.

4- DISCUSSÃO

Com o propósito de identificação das doenças que acometem as espécies ameaçadas de extinção durante a fase de adaptação em laboratório e em viveiros e tanques do CEPTA, com os resultados apresentados durante o período de julho de 2011 a janeiro de 2012 podemos constatar que a piracanjuba como todos os peixes selvagens quando submetidos a condições de cativeiro são bastante susceptíveis a ocorrência de enfermidades, que geralmente são causadas pela falta ou queda da resistência dos peixes. Em muitos casos, isso decorre

devido a agressões sobre organismos e essas agressões geralmente provocam estresse nos peixes (Roberts, 1981).

O estresse pode ser causado por vários agentes, entre eles: variação brusca de temperatura, manejo inadequado dos peixes, baixa quantidade de oxigênio disponível na água, variação de pH e aumento nos níveis de amônia. No manejo destaca-se a captura o uso de apetrechos impróprios, excessiva permanência do peixe fora da água, danos físicos, contado das mãos dos pescadores com a superfície corporal dos peixes, principalmente com as brânquias, etc. Durante o manejo normalmente praticado em sistemas de criação praticamente não foi observada mortalidade dos peixes. O que se observou posteriormente foi que as primeiras mortalidades começam a ocorrer de 3 a 6 dias após o manejo.

Considerando as condições das Sul e Sudeste onde as estações do ano são mais definidas as enfermidades observadas na piracanjuba como pelos parasitas metazoários, protozoários e micoses, as maiores ocorrências foram durante o inverno, quando esses peixes estão mais debilitados devido a não alimentação durante baixas temperaturas. Essa debilidade dos peixes favorece, de certa maneira, a instalação e manifestação das enfermidades. Neste período de saída do inverno quando a temperatura começa a subir os piscicultores começam, muitas vezes erroneamente a manejar os peixes e consequentemente a produzir estresse nos mesmos, comprometendo muitas vezes a saúde dos mesmos. Isto ocorre em relação a viveiros de criação em comparação ao ambiente de rio devido a oscilações bruscas de temperatura.

A temperatura da água afeta tanto o hospedeiro quanto o parasito. Os peixes têm um limite superior e inferior de tolerância térmica e temperaturas ótimas para seu crescimento, incubação de ovos, índice de conversão de alimentos a resistência a determinadas enfermidades. A temperatura da água pode mudar fatores importantes como pressão de oxigênio, solubilidade dos gases, solubilidade de compostos tóxicos, toxicidade de algumas

substancias como metais pesados, e pH da água, portanto, influem também sobre as propriedades do meio aquático importante para a saúde do peixe (Roberts, 1981).

A resposta imunológica em todos os vertebrados ectotérmicos depende da temperatura e temperaturas baixas retardam ou chegam a neutralizar por completo a produção de anticorpos. As piracanjubas em baixas temperaturas também ficam susceptíveis a essas neutralizações. A temperatura crítica abaixo da qual não se desenvolve a resposta imunológica varia de espécie para espécie. Por exemplo, as espécies de água temperadas como a carpa espelho, não produzem anticorpos quando a temperatura da água está 12◦C ou menos, enquanto que a truta arco-íris, de água fria, mantém sua produção de anticorpos até temperaturas de 5◦C (Roberts, 1981).

Parasitos e patogenia encontrados nos peixes.

Piscinodinium

Piscinoodinium pillulare, protozoários altamente patogênicos, maiores causadores de mortandade de juvenis e adultos de piracanjuba, principalmente no período de entrada até a saída do inverno. A incidência deste parasito na piracanjuba provocou hemorragias, necrose, degeneração e inflamação das células da superfície do corpo e brânquias, causando assim a mortalidades nos viveiros. Os peixes apresentaram respiração ofegante (movimentos operculares intensos), emagrecimento e na pele observa-se uma camada de aparência aveludada.

Monogenéticos

Foram detectados monogêneas em raspado de brânquias de piracanjubas observadas ao microscópio óptico comum. Os peixes infectados apresentavam sinais de asfixia, devido à localização branquial dos parasitos, onde ocorre uma irritação, inflamação e aumento de

volume das lamelas branquiais em consequência da fixação e sucção dos vermes. Os opérculos se abrem. Os peixes apresentaram nado errático rumo à entrada de água dos viveiros, raspando-se nas paredes e fundo do tanque, subindo à superfície onde se mantinham com movimentos operculares intensos. Provavelmente os lábios mais desenvolvidos nas piracanjubas infestadas por monogenésicos se deva a necessidade de suprir a demanda por oxigênio decorrente dessa infestação.

Mixosporídeos

Mixosporideos do gênero *Myxobolus* e *Henneguya* têm sido observados infestando diversos órgãos da piracanjuba.

Características da enfermidade: A enfermidade se caracteriza pela presença de úlceras abertas na pele, tecido cutâneo e brânquias. Tais úlceras dão lugar a hemorragias, as quais facilmente se sobreinfectam com bactérias e fungos. Os protozoários endoparasitos, tais como os myxosporídeos, formam esporos resistentes que podem conservar sua capacidade de infestação durante anos (Woo, 1995; Eiras, 1994).

Agente etiológico: O Myxosporídeo *Henneguya* e *Myxobolus* .

Diagnóstico: Os cistos esmagados são observados em microscópio após esfregaço a fresco de muco de pele e brânquias.

Prevenção e controle: Não é encontrada na literatura formas de terapêutica medicamentosa. Uma maneira para se evitar a ocorrência de enfermidades em criações é comprar peixes isentos destas parasitoses, desinfetar tanques e viveiros pelo menos uma vez por ciclo de produção, e todos os utensílios que forem utilizados nesses viveiros. Desta maneira o ambiente de criação estaria “isento” dos parasitos e dos hospedeiros intermediários.

Nematoda

Os peixes podem ser parasitados por nematóides adultos ou por larvas, que muitas vezes são encontradas encistadas. Os hospedeiros definitivos dos nematóides podem ser, alem dos peixes, as aves e os mamíferos e, em alguns casos até o homem. No presente trabalho

foram encontrados espécimes de *Procamallanus* sp. e *Contracaecum* sp. Os indivíduos de Procamallanus sp. foram representados por adultos, os quais possuem uma capsula bucal utilizada na fixação desses helmintos na mucosa intestinal. Pouco sabe-se sobre o tipo de patologia que esse helminto pode proporcionar em seu hospedeiro. Larvas de *Contracaecum* sp. quando encontradas em peixes são especialmente importantes, porque são representantes da família Anisakideae, a qual apresenta alguns representantes com potencial zoonótico. Ainda no Brasil nada foi relatado sobre aspectos zoonóticos referentes a larvas do grupo dos anisakideos, entretanto para os peixes elas podem causar algum tipo de patologia devido a sua capacidade de invasão tecidual.

Característica da enfermidade

Nos peixes de criação, sua característica está relacionada principalmente com a possibilidade de ocorrer obstrução da luz intestinal do hospedeiro. Isso geralmente ocorre quando se associam grande intensidade de nematóide a outras espécies de helmintos e em se tratando de peixes de pequeno porte.

Agente etiológico: *Contracaecum* sp e *Procamallanus* sp.

Diagnóstico

Da mesma forma que para os outros parasitas internos, o diagnóstico é feito por meio da pesquisa dos parasitas após a necropsia dos peixes, examinando-se principalmente o intestino, além dos demais órgãos internos, peritônio e musculatura.

Copepoda

Lerneose – *Lernaea ciprinacea*

Lerneas são os parasitas mais nocivos nas criações de peixe de água doce. Assim foram objeto de vasto e detalhado estudo nas zonas climáticas temperadas e tropical. A atividade destrutiva da *Lernaea* é devida ao seu grande tamanho, modo fé fixação e alimentação. Estes copépodos, após se fixar no peixe, sofrem profunda metamorfose (figura 18), da qual resulta a adoção de formato vermiforme com um gancho anterior, o qual fica

enterrado no tecido do hospedeiro. O formato do corpo e do órgão de fixação deu a *Lernaea* seu nome inglês de “verme âncora”.

L. cyprinacea e presumivelmente todos os seus congêneres, prejudicam o peixe hospedeiro devido a sua fixação e alimentação que dilaceram os tecidos. O parasita se nutre de eritrócitos e tecidos arruinados causando uma série e prolongada perda de energia. Especialmente peixes jovens correm risco de vida.

Os tecidos que são danificados em primeiro lugar são a pele e a musculatura, que se apresentam edemaciadas e epidêmicas. Aparecem úlceras com as margens edemaciadas, escamação danificada ou perdidas e se manifesta uma necrose. Infecções secundárias principalmente fúngicas, são comuns. O tecido conectivo do hospedeiro reage formando uma espessa cápsula fibrosa ao redor do implante da extremidade do parasita. Nadadeiras podem ser parcialmente ou completamente distribuídas. Ocasionalmente os ferimentos causados pela implantação do parasita se desenvolvem em fistulas, penetrando na cavidade abdominal o que pode causar a morte dos peixes. Fixação na cabeça ou boca, principalmente de peixes jovens pode causar torção e deformação de ambos maxilares. Peixes pequenos correm risco de penetração profunda com injúria interna. Danos no intestino, fígado e cérebro foram relatados por Paperua & Thurston (1968).

Os efeitos gerais da infecção por *Lernaea* são evidenciados por acentuada perda de peso. A composição sangüínea esta alterada havendo um significativo aumento de monócitos e polimorfonucleares. O desenvolvimento gonadal pode estar retardado. Em águas pouco oxigenadas os peixes infectados frequentemente apresentam dificuldades respiratórias e pode apresentar apatia, um típico sintoma de debilidade. Mortandade maciça não é incomum.

Os copépodos lerneídeos são considerados como responsáveis por perdas significativas na aqüicultura mundial, (Kabata, 1985). No Brasil, a sua ocorrência foi

verificada primeiramente nas carpas importadas da Hungria e, a partir de 1986, vem se alastrando vertiginosamente para muitas espécies (Ceccarelli et al., 1990).

Enfermidades micóticas

Característica da enfermidade: é uma enfermidade muito comum tanto em peixes como em ovos em incubação. Ela deve ser considerada principalmente como uma infecção secundária, pois o desenvolvimento da enfermidade só tem lugar mediante a invasão de feridas ou infecção primária por fungo. Os sinais clínicos mais comumente observados nos peixes afetados incluem a presença de uma massa no formato de algodão com hifas micóticas que cobrem o corpo, nadadeiras e brânquias. Uma vez destruído o tegumento, o fungo penetra na musculatura e finalmente nos órgãos viscerais (Conroy & Vasquez, 1975; Pavanelli et al., 1997; Reinchenbach-Klinke, 1982).

Entre os fatores ambientais que favorecem o crescimento do fungo, figura o excesso de matéria orgânica na água (ex: excesso de alimento, peixe morto, etc), como também danos mecânicos e debilidade nos peixes, ou a presença de ovos não fertilizados e/ou mortos na incubadora.

A redução da mortalidade de exemplares de *B. orbignyanus* alcançada durante o desenvolvimento desse trabalho foi possível graças à utilização de manejo mais adequado de captura, manutenção e transporte nos barcos, acondicionamento em caixas no caminhão, transporte, preparo de viveiros para recepção e tratamento anti estresse esses dados mostram um avanço expressivo na melhora do manejo de transporte, resultado esse de pesquisa de 3 anos obtidos pelo CEPTA e o conhecimento aplicado.

Agente etiológico: fungos dos gêneros *Saprolegnia* sp.

Diagnóstico: Mediante o exame direto ao microscópio de um esfregaço a fresco, onde pode ser visto o crescimento micelar típico dos fungos.

Controle das Enfermidades

Sal grosso – NaCl

Durante o período do estágio o produto mais utilizado como preventivo no controle de enfermedades no CEPTA foi o Sal - NaCl.

Dentre suas características, o sal é uma substância amplamente disponível, de baixo custo, seguro para os peixes e para quem o manipula. Composto basicamente por cloreto de sódio (NaCl), pode ser usado em diversas situações da criação de peixes: na prevenção e controle de doenças; como alívio do estresse relacionado às despescas, biometrias, classificações por tamanho, transferências dos indivíduos e confinamento durante a depuração; no alívio do estresse do transporte de curta e longa duração; e como amenizador de condições ambientais adversas (toxidez por nitrito, inflamação das brânquias, entre outros), isso através da osmorregulação, que preenche os vasos sanguíneos com íons sódio ($Na^{+)}$ sendo que o sangue dos peixes de água doce contém cerca de 9g de sal/litro ou 0,9% de sal, o equivalente à concentração de um soro fisiológico vendido nas farmácias. Esta concentração é semelhante ao registrado em outros animais, inclusive no homem. O íon sódio (Na+) representa cerca de 75% a 80% dos sais presentes no sangue dos peixes. (KUBITZA, 2007).

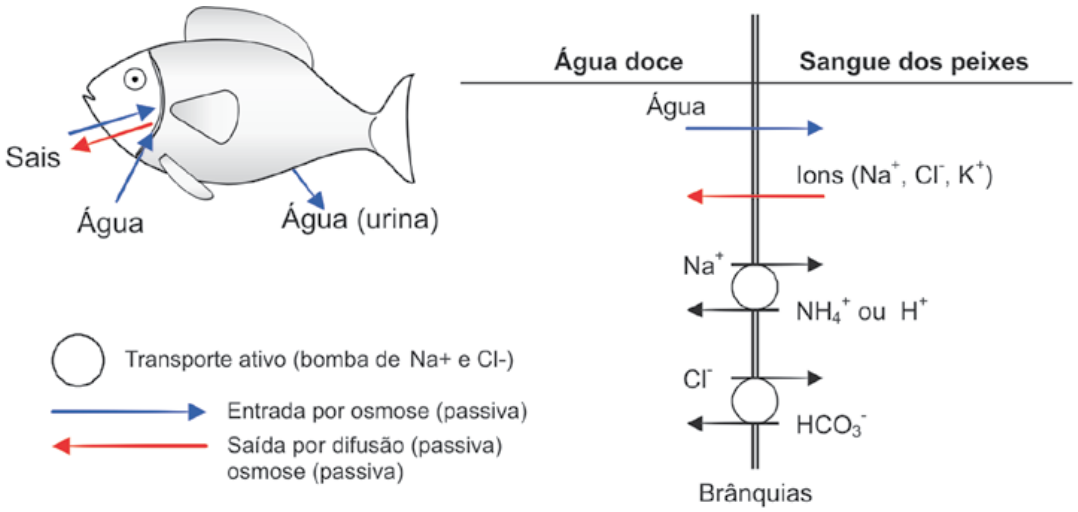

Figura 23 - Esquema ilustrativo mostrando a variação dos sais e a osmorregulação em peixes de água doce. Fonte: KUBITZA; 2007

4.1 - Manejo integrado de espécies ameaçadas

Informações de procedimentos adequados para o desenvolvimento de técnicas de controle das principais doenças, viabilizando a manutenção da *B. orbgnyanus* em ambientes "ex situ".

O conhecimento da zona de conforto térmico é fundamental a manutenção de peixes em sistema de cativeiros, pois é um fator determinante para saber quando pode ou não realizar o manuseio desses peixes, espécies para manutenção de espécies de peixes selvagens como. Durante o período de permanência e principalmente durante o período de adaptação de peixes selvagens em viveiros "ex situ" para formação de reprodutores é necessário manter condições ótimas para induzir a resposta imunológica primária, inclusive elevar artificialmente a temperatura da água. No caso da piracanjuba esse conforto térmico se encontra acima de 21ºC e abaixo de 28ºC

Segundo pesquisadores do CEPTA existem alguns procedimentos que podem ser realizados antes do período de inverno para que os peixes tropicais passem esse período crítico sem manifestação de enfermidades. A seguir apresentamos alguns desses procedimentos:

- Aumentar o nível da água dos viveiros deixando o mais profundo possível, isso vai evitar mudanças repentinas de temperatura;

- Colocar uma espécie de peixe que tenha o hábito de remover o fundo do viveiro, juntamente com as espécies ameaçadas, para promover um pequeno turvamento na água, pois a água um pouco mais turva vai reter maior quantidade de energia e, com isso vai manter a água mais quente por maior período;

- Reduzir a densidade de peixes dificultando a transmissão de parasitos de um peixe para o outro;

- Fornecer uma ração com maior quantidade de matéria graxa insaturada para proporcionar ao peixe maior acumulo de gordura e com isso possibilitar que seja utilizado essa gordura como fonte de energia durante o período de inverno, período crítico em que os *Brycons* param de se alimentar;

- Evitar o manejo dos peixes no período em que as temperaturas atinjam níveis inferiores a temperatura de conforto para as espécies alvo.

Inúmeras pesquisas têm mostrado que a probabilidade de uma espécie se extinguir aumenta enormemente quando sua população se torna pequena. Todas as espécies da flora e da fauna necessitam de um numero mínimo de indivíduos para garantir que estejam aptas a sobreviver e seguir seu caminho evolutivo. Para garantir a sobrevivência de uma espécie, é necessário garantir que ela possua pelo menos essa população mínima viável (VALLADARES-PADUA, 2006). Vale aqui ressaltar a importância desse trabalho na manutenção de estoque de piracanjuba em condições "ex situ" com variabilidade genética alta para garantir a sobrevivência da espécie nas suas áreas de ocorrências sendo que em estudos genéticos realizados pelo CEPTA somente um local pode ser considerado como seguro (rio Ivinhema e rio Verde/MS) com características selvagens.

Com tantos desafios frente as condições da piracanjuba em seu ambiente natural para atingir o mínimo necessário faz-se necessária o uso de manejo conservacionista que garanta os patamares mínimos genéticos, demográficos e ecológicos compatíveis com sua perpetuação. Para salvar espécies ameaçadas de extinção e necessário atingir dois objetivos: o primeiro é reduzir as ameaças sobre a espécie e o outro é recuperar sua viabilidade.

A maioria das espécies em extinção se encontra nesse limiar pela ação do homem, as mais importantes são:

- Destruição da natureza/fragmentação de ecossistemas;
- Degradação do hábitat (incluindo poluição);

- Superexploração das espécies para uso humano;
- Introdução de espécies exóticas;
- Aumento de ocorrência de doenças.

O grande desafio da conservação de espécies é reduzir as pressões negativas sobre elas e seu hábitat, em casos extremos é preciso manejá-las genética e demograficamente para manter sua população dentro dos patamares de viabilidade, enquanto se trabalha a redução das ameaças que recaem sobre si.

Os desafios na conservação de pequenas populações podem ser ameaçadas por fatores intrínsecos, mais importantes em demografia, são aqueles que afetam as taxas de nascimento e morte ou razão sexual de uma população, as populações podem ser afetadas em sua variabilidade genética. Já entre os fatores extrínsecos, o fator que mais afeta uma pequena população e simplesmente a variação ambiental, como catástrofes, incêndio, furacão que podem dizimar toda a população (VALLADARES-PADUA, 2006).

Na conservação de espécies que possuem populações reduzidas devem ter prioridade pesquisas sobre a situação dessas espécies na natureza (status) e a formulação de um programa de manejo especifico para ela.

O objetivo de salvar uma espécie está relacionado, também, a proteção e conservação de seu hábitat, e as ações para isso devem ocorrer concomitantemente. Para conservação de populações pequenas é fundamental a criação de um cenário onde exista fluxo gênico suficiente para escapar dos efeitos deletérios genéticos e demográficos prejudiciais, aumentando o numero de indivíduos e mantendo ao mesmo tempo a variabilidade genética da espécie. Esse fluxo genético pode ser planejado através de ações como **translocações**, que seria a movimentação de animais selvagens entre populações distintas, dentro do território de ocorrência e **reintroduções** que no caso, são animais nascidos em cativeiro de volta à vida livre, dentro do território original de ocorrência.

A população de cativeiro serve, nesse caso, como uma base para reconstrução da população na natureza, após a ocorrência de possíveis catástrofes dizimadoras ou outros fatores redutores de população. Também serve como incremento de indivíduos na natureza em programas de reintrodução e populações em cativeiro, não deve figurar como as únicas e principais soluções para a conservação de uma espécie com tamanho populacional pequeno. No caso da população em cativeiro é possível que haja um depauperamento genético da população se não forem adicionados novos indivíduos selvagens a ela (novos fundadores).

A conservação de espécies pode ser feita através de um programa diferenciado para o manejo de espécies ameaçadas, denominado programa de manejo de metapopulação, que envolve ações integradas entre cativeiro e vida livre. O manejo de metapopulção enfoca a conservação de subpopulações pequenas de uma espécie em conjunto, como uma grande população. Neste manejo, a população em cativeiro (população-núcleo) não precisa ser grande, porque o fluxo constante de indivíduos entre cativeiro e natureza manterá a diversidade genética necessária, com um número menor de animais. Desta forma, a população-núcleo possuirá sempre uma alta proporção da diversidade de genes selvagens. Isso a torna uma população com a mesma qualidade genética e demográfica da população selvagem, e que pode ser usada para repovoar a natureza caso algum fator diverso aconteça.

No programa de manejo de metapopulação, manutenção da viabilidade populacional não está limitada à população de cativeiro, através dos reintrodutores. O manejo é integrado entre as subpopulações selvagens e a população-núcleo, sendo que a ênfase maior está nas subpopulações selvagens, que são a base para viabilidade da espécie.

É importante salientar que, nesse tipo de manejo, somente com um estreito contato entre profissionais que trabalham no cativeiro e na natureza pode-se estabelecer um programa de sucesso, no qual se diagnostique e solucione os problemas da espécie.

No caso da piracanjuba, sua biologia e ecologia são bem aparentes e pesquisadas. As ações que se estabelecem são as de proteger e recuperar seus habitats remanescentes; ações de conservação "ex situ", como a formação de bancos genéticos, e o manejo in situ das populações sobreviventes também são estratégias importantes no sentido de resgatar a variabilidade genética das espécies ameaçadas. Algumas dessas ações já estão sendo desenvolvidas pelo CEPTA. No futuro, espera-se que os exemplares de *B. orbgnyanus* mantidos em cativeiro possam servir de material-fonte para programas de reintrodução da espécie na natureza.

4.2 - Desafios da reintrodução de espécies nativas no Brasil

As reintroduções (ou "repovoamentos") não se valeram apenas das espécies produzidas em piscicultura: parcela significativa das espécies disseminadas no território brasileiro foi simplesmente capturada em algum ambiente natural e liberada em outro (espécies alóctones). Algumas delas passaram por um período prévio de aclimatação em estações de piscicultura, como a corvina-de-água-doce ou pescada-do-piauí (*Plagioscion squamosissimus*), o apaiari ou oscar (*Astronotus ocellatus*), o tucunaré (espécie do gênero *Cichla*), e muitas outras mantidas nos açudes do Nordeste e depois introduzidas em reservatórios e rios do Sul e do Sudeste do país (VIEIRA & POMPEU, 2001).

Recentemente, a liberação de peixes híbridos agravou ainda mais o já confuso quadro dos repovoamentos no país. Os exemplos mais conhecidos são os "paquis" e "tambacus" obtidos por cruzamentos entre pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*). Também é híbrida a espécie conhecida como "pintachara" ou "cachapinta" (do gênero *Pseudoplatystoma*, cruzamento entre as espécies *P. corruscans e P. fasciatum*), piscívora de grande porte muito cultivada para uso em estabelecimentos do tipo "pesque-

pague” e para alimentação. Existem registros de captura de exemplares desses híbridos no RPS, porém, com identificação ainda não confirmada (INEA, *com. pes.*).

A formulação de legislação especifica – as portarias 46, de 27de janeiro de 1971 e a 001, de 4 de janeiro de 1977, da então Superintendência do Desenvolvimento da Pesca (SUDEPE) – fez das reintroduções uma regra a partir dos anos 70, quando essa prática passou a ser o principal método para diminuir os impactos da construção de barragens sobre as comunidades de peixes. As portarias tornaram obrigatória a implantação, junto às usinas hidrelétricas, de estações de piscicultura. A definição legal adotada para essas estações revela a baixa preocupação com os impactos ambientais: *“o conjunto de obras, instalações e equipamentos necessários aos trabalhos de pesquisa e produção de alevinos para reposição, manutenção, substituição e ampliação dos estoques de peixes das represas e bacias hidrográficas*”. O termo ‘substituição’, por exemplo, comprova a visão inadequada em que esse documento legal estava baseado.

Uma confirmação do uso constante dos repovoamentos foi feita por um estudo da Universidade Federal de Juiz de Fora: de 30 Estudos de Impacto Ambiental (EIA) realizados para usinas hidrelétricas, em diferentes estados, 25 apresentaram propostas de mitigação de impactos e, desses, 11 recomendaram ações de reintroduções. Na interpretação dos pesquisadores, tais ações são ineficazes, pois não há relatos de reintroduções que tenham conseguido o retorno de espécies nativas perdidas com a transformação do hábitat de rio para reservatório. Para agravar a situação, a maioria das espécies introduzidas (e que conseguiram se estabelecer) em reservatórios brasileiros veio de outros países ou de bacias diferentes daquela em que a barragem foi implantada. Um exemplo patente é a introdução do bagre-africano (*Clarias gariepinus*), espécie agressiva e com alto potencial invasor, em muitos rios e reservatórios do país.

A associação entre a intensa degradação dos ambientes aquáticos nas últimas décadas e uma legislação ambiental equivocada tornou os programas de repovoamentos a principal, e em alguns casos, única estratégia de reversão do processo de perda de espécie em corpos d'água. Embora estas ações continuem a ser praticadas em todo o país, são raros os estudos que avaliem sua eficiência na recuperação de espécies de populações ameaçadas, sua relação custo-benefício o seu papel dentro de sistemas de manejo sustentável das populações.

Os poucos estudos disponíveis até agora mostraram alterações em vários sistemas, embora a maioria das questões continue sem repostas. A manutenção da qualidade genética dos exemplares produzidos talvez seja um dos maiores problemas nos programas de repovoamentos. A alta taxa de sobrevivência de indivíduos obtida nas estações de piscicultura, se comparada à da natureza, indica que genótipos de baixa aptidão, normalmente eliminados atreves da seleção natural, serão liberados. Como é liberada grande quantidade de indivíduos, tida como necessária para a eficiência das reintroduções, a aptidão média dos indivíduos da população (a natural mais a introduzida) tende a diminuir, o que altera as taxas de sobrevivência e de renovação da população.

Outro fator que não pode ser desconsiderado é uma possível redução da qualidade do estoque receptor, quer dizer, dos indivíduos nativos que já viviam no ambiente, em função do aumento dos níveis de consangüinidade. Quando o repovoamento é realizado com espécies exóticas, inúmeros problemas adicionais podem ocorrer, inclusive a predação de peixes nativos e a introdução no ambiente de agentes causadores de doenças que antes não existiam (HILSDORF, 2009).

Considera-se um repovoamento "de sucesso" aquele capaz de estabelecer uma população introduzida em um ambiente natural. No entanto, sob o ponto de vista da integridade dos ambientes aquáticos, isso é questionável. Embora os repovoamentos possam aumentar a disponibilidade de peixes, fato raramente demonstrado no Brasil, eles não têm

resultado na manutenção da biodiversidade ou na recuperação das funções ecológicas, pois não são direcionados para isso (VIEIRA & POMPEU, 2001).

No Brasil, os programas de repovoamento desenvolvidos por órgãos públicos ou concessionárias do setor elétrico indicam um aumento anual do número de peixes liberados, como no caso da Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (Codevasf). Grande parte das espécies usadas nesses programas ainda são exóticas, evidenciando que, apesar do conhecimento dos problemas que o uso destes organismos gera, eles continuam a ser liberados em grande proporção.

Outro exemplo que mostra a necessidade de revisão dessa estratégia está na pesca profissional no reservatório de Furnas, situado no rio Grande, em Minas Gerais. Estudo realizado desse reservatório mostrou que, após 17 anos de reintroduções com o trairão (*Hoplias lacerdae*), essa espécie contribuía com apenas 1,9 % da população pesqueira. O restante da população compôs-se de espécies nativas ou exóticas, que não haviam sido objeto de repovoamentos sistemáticos (VIEIRA & POMPEU, 2001).

Dados como esses chamam a atenção para a afirmação do biólogo Ângelo Antonio Agostinho, do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aqüicultura (Nupélia) da Universidade Estadual de Maringá (PR), quanto aos programas de reintroduções conduzidos no Brasil: "*Espécies erradas colocadas em locais inadequados, de maneira equivocada e sob condições naturais não apropriadas levaram esses esforços ao insucesso. Na maioria dos casos de introduções, os espécimes liberados jamais foram capturados, o que obviamente significa equívoco na alocação de esforços*".

Cabe ainda ressaltar que a maioria das reintroduções teve ou tem como objetivo explícito o cumprimento da legislação ou o aumento da produção pesqueira. Raras vezes, essa estratégia foi empregada para recuperar populações que estivessem em perigo real de extinção (VIEIRA & POMPEU, 2001).

5. CONCLUSÕES

- Durante a fase inicial de criação da *Brycon orbgnyanus* em cativeiro ocorre uma alta incidência de parasitismos e ocorrem mortalidades.
- O *Piscinoodinium* sp provocou a morte de *B orbgnyanus* em cativeiros.
- A *B. orbgnyanus* é susceptível a ocorrência d*e Monogenéticos, Procamallanus* sp*, Cotracaeccon* sp, piscinoo*dinium* sp, Mixosporídeos, *Lernaea* sp. e *Saprolegnia* sp.
- Histologia: Estômago lesionado apresentando o lumem desta porção repleto de detritos, além da presença de partes de parasitas cortados na microtomia.
- Nas Brânquias a microscopia nota lamelas branquiais hiper, hipoplásicas e algumas fundidas, podendo ser pela presença de mixosporídeos, isso pode caracteriza um estado de cronicidade da infecção que se estabeleceu nas brânquias.
- A adoção de medidas preventivas durante a manutenção das espécies de peixes ameaçadas de extinção em cativeiros pode reduzir a manifestação de enfermidades e com isso viabilizar a formação de planteis de reprodutores em bancos genéticos.

6. AGRADECIMENTOS

- Agradeço em especial ao meu orientador Dr. Paulo Sérgio Ceccarelli, pela dedicação e paciência exercida, e a experiência e conhecimento passada a mim durante esse período de estágio que vão em muito contribuir na minha formação profissional.
- Agradeço em especial ao meus pais e familiares pelo apoio para realização desse trabalho e por tudo que venho fazendo.
- Agradeço em especial meu grande Profº de Histologia Norair Salviano dos Reis, pelo apoio e paciência para realização desse trabalho, e por me proporcionar um amplo conhecimento dos estudos realizados.

- Agradeço ao CEPTA/ICMBio por possibilitar o desenvolvimento desse estágio, cedendo alojamento para poder dedicar me maior tempo neste referido Centro. Permitir desenvolver os trabalhos nos laboratórios de ictiopatologia juntamente com profissionais da área em especial o Lincoln Lima Corrêa, Julio Cenci de Aguiar e outros estagiários possibilitando com isso a troca de informações nas diferentes áreas.
- Agradeço também os técnicos de laboratório Ricardo Afonso Torres de Oliveira e ao Arlindo Donizetti Lanconi por todo apoio e paciência no desenvolvimento dos trabalhos e a todo pessoal do CEPTA que de alguma forma contribuíram para realização de meus trabalhos.
- Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa.

7 Considerações Finais

Todas as etapas foram concluídas dentro do prazo previsto. Entretanto esse trabalho será continuado para finalizar as analises hematológicas que estão sendo realizadas cujos resultados preliminares não puseram ser apresentadas nesse relatório final e para buscar alternativas sustentáveis de controle parasitário em peixes de viveiros de espécies ameaçadas do CEPTA/ICMBio.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMLACHER, E. *Manual de enfermedades de los peces***.** Zaragoza: Editorial Acribia, 1964 - 319 p.

BRISTKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. *Manual de identificação de peixes da região de Três Marias* (com chave de identificação para os peixes da Bacia do São Francisco) Ministério da irrigação - CODEVASF, Minas Gerais, 1988.115p.

BRISTSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. *Manual de identificação de peixes da região de Três Marias*: com chaves de identificação para os peixes da bacia do São Francisco. Brasília, Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicaçães Codevasf, Divisão de Piscicultura e Pesca, 1984, 143p.

CECCARELLI, P.S, SENHORINI, J.A, CANTELMO, O.A, REGO, R.F (2010). Piracanjuba (*Brycon orbgnyanus*, Valenciennes, 1849) in, BALDISSEROTTO, B, GOMES, L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2. Ed. rev. e ampl. – Santa Maria: Ed. da UFSM, 2010. 608p

CHUBB, J.C., Seasonal occurrence of helminths in fishes. Part IV. Adult Cestoda, Nematoda and Acanthocephala. *Adv. Parasitol*. 20:1-291.

CORDEIRO, Newton V., Environmental management issues in the Plata basin. In: Asit K. BISWAS et al. (Ed.), Management of Latin American river basins: Amazon, Plata, and São Francisco. Tokyo: UNU Press. 1999..

EIRAS, J.C., *Elementos de ictioparasitologia*. Porto-Portugal. Fundação Eng. Antonio de Almeida. 1994 - 339 p.

FELIZARDO, V. de O. *Manejo reprodutivo da piracanjuba (Brycon orbignyanus): congelamento de sêmen e taxas de fertilidade*. Lavras : UFLA, 2008.

FERRAZ DE LIMA, C.L.B., BASÍLIO, M.C. *Técnicas para a preparação de coleções parasitológicas de peixes***.** Pirassununga: CEPTA/IBAMA, 1994, 10pp. (apostila).

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, Secretaria de Meio Ambiente, Coordenação de Planejamento Ambiental. Projeto GEF: Gerenciamento Integrado e Sustentável do Aquífero Guarani. 2000.

KABATA, Z. *Parasites and diseases of fish cultured in the tropics*. London: Taylor & Francis, 1985. 318p.

KUBITZA, F. A versatilidade do sal na piscicultura. *Revista Panorama da Aquicultura*, setembro/outubro, 2007.

MARTINS, M. L. (1998). *Doenças Infecciosas e Parasitárias de Peixes* – UNESP. Boletim Técnico nº 3 – 2ª edição. p. 19-22, 27 e 28.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). *Livro Vermelho da Fauna Ameaçada de Extinção*. Ângelo Barbosa Monterio Machado, Gláucia Moreira Drummond, Adriano Pereira Paglia (Eds). – 1.ed – Brasília, DF : MMA; Belo Horizonte, MG : Fundação Biodiversitas, 2008. 2v. 1420 p..

PAPERNA, I. *Parasites, infections and diseases of fishes in Africa*. CIFA Tech. Pap., n. 7, p.1-216, 1980.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C. & TAKEMOTO, R.M. *Doenças de Peixes – Profilaxia, Diagnóstico e Tratamento* – Maringá: EDUEM: CNPq: Nupélia, 264p.:il,

1998.

REINCHENBACH-KLINKE, H.H., *Enfermedades de los peces*. Zaragosa, Editorial Acribia, 1982. 507 p.

ROBERTS, R.J. *Patologia de los peces*. Version Española de M. Carmem Blanco Cachafeiro. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, 1981. 366p.

S. Bravo; H. Dölz; M.T. Silva; C. Lagos; A. Millanao; M. Urbina; Diagnostico del uso de fármacos y otros productos químicos en la acuicultura; Puerto Montt, 2005.

TRAVASSOS, L. Esboço de uma chave geral dos nematóides parasitas. *Rev. Vet. Zoot.* 10 (2): 59-70, 1920.

TRAVASSOS, L.; ARTIGAS, P. & PEREIRA, C., Fauna Helmintológica dos Peixes de Água Doce do Brasil. *Arch. Inst. Biol*., 1: 5-68, 1928.

VALLADARES-PADUA, C. B, MARTINS, C. S, RUDRAN, R (2006), "Manejo integrado de espécies ameçadas", *in* Laury Cullen Jr., Rudy Rudran, Cláudio Valladares-Padua (orgs.), *Biologia da Conservação & Manejo da Vida Silvestre.* Curitiba: UFPR, 633-648.