

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO
OBRIGATÓRIO

Área: Reprodução, sanidade e patologia em organismos aquáticos.

Aluna: Maria Luiza Ruiz - GRR20094060
Orientadores: Evoy Zaniboni Filho
Mauricio Laterça Martins
Supervisor: Leandro Portz

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado, como parte das
exigências para conclusão do
Curso de Graduação em Medicina
Veterinária da Universidade
Federal do Paraná

PALOTINA – PR
Maio, 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Área: Reprodução, sanidade e patologia aquícola.

LAPAD – Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce, UFSC,
Florianópolis.

AQUOS - Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, UFSC, Florianópolis.

Aluna: Maria Luiza Ruiz GRR20094060

Orientadores: Evoy Zaniboni Filho

Mauricio Laterça Martins

Supervisor: Leandro Portz

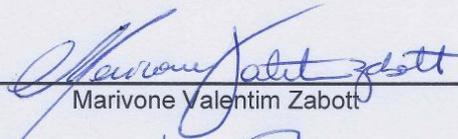
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO
Área: Reprodução, sanidade e patologia em organismos aquáticos.
Acadêmica: Maria Luiza Ruiz
Orientadores: Evoy Zaniboni Filho e Maurício Laterça Martins
Supervisor: Leandro Portz

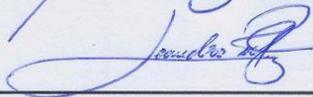
O presente Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado e
aprovado pela seguinte banca examinadora:



Prof. Eduardo Luis Cupertino Ballester



Marivone Valentim Zabott



Leandro Portz
(Supervisor)

Palotina, 22 de maio de 2014

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais Antonio e Claudia, pois sem o carinho, apoio e o amor incondicional dos dois nada disso seria possível. Aos meus irmãos, familiares e todas as pessoas que torceram por mim, estiveram comigo e aqueles que nesse momento já não se fazem mais presentes. Ao Welliton agradeço pela amizade e companheirismo.

Ao Professor Dr. Leandro Portz, que além de orientador acompanhou meu desenvolvimento ao longo de dois anos e investiu para que esse estágio pudesse acontecer.

A todas as pessoas do Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes – Lapad, obrigada pelo carinho, amizade e pelos cuidados que tiveram comigo, ao Prof. Dr. Evoy Zaniboni Filho por ter aceitado ser meu orientador e o Dr. Guiliano Huergo por ter sido meu supervisor, muito obrigada pela confiança e pelos ensinamentos.

Aos colegas do Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos – Aquos agradeço pela paciência e dedicação, ao Prof. Dr. Maurício Laterça Martins por ter aceitado ser meu orientador, ter sido presente e compreensivo em todos os momentos.

Agradeço também aos professores Dr. Eduardo Luis Cupertino Ballester e a Dr^a. Marivone Valentim Zabott, pela disponibilidade em participar da banca examinadora.

Por fim, agradeço a Deus por ter me dado coragem e discernimento para prosseguir e enfrentar esse desafio.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização do Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce – LAPAD, Florianópolis -SC.	11
Figura 2. Estrutura do LAPAD composta por três blocos, A, B e C.	12
Figura 3. Viveiro de reprodutores.	17
Figura 4. Verificação de fêmeas viáveis para a reprodução.	18
Figura 5. Transporte de peixe vivo.	19
Figura 6. Extrusão de ovos realizada em curimba (<i>Prochilodus lineatus</i>).	20
Figura 7. Estrutura do Núcleo de Estudos em Patologia Aquícola – NEPAQ	28
Figura 8. Biometria de sardinha (<i>Sardinella brasiliensis</i>).	31
Figura 9. Punção sanguínea através de veia caudal em jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)...	32

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	7
ESTÁGIO NO LABORATÓRIO DE BIOLOGIA E CULTIVO DE PEIXES DE ÁGUA DOCE – LAPAD – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC	7
RESUMO	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. DESCRIÇÃO GERAL DO LOCAL DE ESTÁGIO	11
3. ATIVIDADES REALIZADAS	13
3.1 AUXÍLIO NOS EXPERIMENTOS DE MESTRADO	13
3.1.1 Sequestro de Nitrogênio e Fósforo em diferentes fluxos de água para sistema de aquaponia com piava (<i>Leporinus obtusidens</i>) e alface (<i>Lactuca sativa</i>).	13
3.2 AUXÍLIO NOS EXPERIMENTOS DE DOUTORADO	13
3.2.1 Exigência proteica de juvenis de jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>) baseada em aminoácidos digestíveis: ensaios de digestibilidade e crescimento.....	13
3.2.2 Ovogênese e espermatogênese do suruvi (<i>Staindachnerinun scriptum</i>) durante o ciclo reprodutivo em cativeiro.....	14
3.3 MANUTENÇÃO DO SISTEMA EXPERIMENTAL DE RECIRCULAÇÃO FECHADA 15	
3.4 AUXÍLIO NOS TRABALHOS DE CAMPO.....	16
3.4.1 EPAGRI– Campo Experimental de Piscicultura de Camboriú –CEPC.....	16
3.4.2 EPAGRI– Unidade Experimental de Piscicultura UniPis.....	19
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
CAPÍTULO 2	23
ESTÁGIO NO LABORATÓRIO DE SANIDADE DE ORGANISMOS AQUÁTICOS – AQUOS – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC	23
RESUMO	24
1. INTRODUÇÃO	25
2. DESCRIÇÃO GERAL DO LOCAL DE ESTÁGIO	27
3. ATIVIDADES REALIZADAS	29
3.1 AUXÍLIO NOS EXPERIMENTOS DE MESTRADO	29

3.1.1	Influência da imunização com <i>Icthyophirius multifiliis</i> (Fouquet, 1876) sobre a sobrevivência e respostas imunológica e hematológica em <i>Rhamdia quelen</i> (Quoy & Gaimard, 1824).....	29
3.1.2	Eficácia dos óleos essenciais de <i>Lippia sidoides</i> (alecrim pimenta) e <i>Mentha piperita</i> (hortelã pimenta) no controle de monogenea em <i>Oreochromis niloticus</i>	29
3.2	AUXÍLIO NAS COLETAS DE CAMPO – CENTRO EXPERIMENTAL DE MARICULTURA – CEMar	30
3.3	AUXÍLIO NAS AULAS DE ATIVIDADE COMPLEMENTAR.....	31
3.4	TREINAMENTO BÁSICO EM HEMATOLOGIA.....	32
3.5	TREINAMENTO BÁSICO EM PARASITOLOGIA.....	33
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
	REFERÊNCIAS	35

CAPÍTULO 1

**ESTÁGIO NO LABORATÓRIO DE BIOLOGIA E CULTIVO DE PEIXES DE ÁGUA
DOCE – LAPAD – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC**

RESUMO

O presente capítulo descreve atividades realizadas no período do dia 20 de janeiro a 14 de março de 2014 no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce – LAPAD da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, dentro da disciplina de Estágio Supervisionado Obrigatório da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. As atividades foram desenvolvidas sob a orientação do Prof. Dr. Evoy Zaniboni Filho, com supervisão direta do Dr. Giuliano Huergo, e com supervisão local do Prof. Dr. Leandro Portz. São contemplados nesse trabalho de conclusão de curso os elementos descritos no Plano de Atividades. Dando ênfase as atividades de seleção de reprodutores das espécies: piava (*Leporinus obtusidens*), curimba (*Prochilodus lineatus*), dourado (*Salminus brasiliensis*) e suruvi (*Steindachneridion scripta*); indução e desova; transporte de reprodutores; manejo de reprodutores antes, durante e após desova; larvicultura de peixes; auxílio na manutenção dos sistemas de recirculação fechada; e em trabalhos de mestrado e doutorado do grupo.

1. INTRODUÇÃO

As espécies nativas são peça chave para o desenvolvimento da piscicultura no Brasil. Não obstante, considerando que atualmente no país a piscicultura é dominada principalmente por espécies exóticas como a tilápia. É de ressaltar, que o desenvolvimento de pacotes tecnológicos para incrementar a produção de peixes nativos, dando prioridade à preservação dos estoques naturais e seu meio ambiente são de vital importância para que a piscicultura possa alcançar o patamar de sustentável.

Dentre as espécies nativas com potencial para o cultivo destaca-se o suruvi (*Steindacneridion scripta*) siluriforme de clima tropical, na América do Sul é encontrado no Alto Rio Paraná e na bacia do Rio Uruguai, são animais dóceis além de apresentar boa resistência ao manejo, os machos normalmente são menores que as fêmeas e são adaptados a diferentes fotoperíodos, a sua reprodução ocorre por um período reduzido principalmente durante a primavera (FRACALOSSI *et al.*, 2002). Outro bagre de grande importância é o jundiá (*Rhamdia quelen*) que pertence à classe dos peixes *Osteichyces*, da família *Pimelodidae*, com uma ampla distribuição na América do Sul é uma espécie onívora, mas tem tendência carnívora, além de tolerância à grandes variações térmicas (GOMES *et al.*, 2000).

Ainda podemos ressaltar a importância da piava (*Leporinus obtusidens*) *Characiforme* de clima tropical, considerado um onívoro detritívoro, pois se alimenta de matéria orgânica em decomposição, pequenas frutas e outros peixes, por se tratar de uma espécie onívora pode aproveitar de forma eficiente produtos de origem animal e vegetal, característica bastante útil para sua criação em cativeiro. Já a curimba (*Prochilodus lineatus*) é onívoro - iliófago, ou seja, alimenta-se de substrato (lodo ou areia), tem fácil reprodução e manejo e suas larvas são muitas vezes utilizadas para alimentação das fases iniciais de dourados (FRACALOSSI *et al.*, 2002).

O Dourado (*Salminus brasiliensis*) é uma espécie da ordem dos *Characiformes*, comumente encontrada nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai, considerada ictiófaga ou piscívora, ou seja, se alimenta exclusivamente de peixes, é bastante apreciada para pesca esportiva (DAIRIKI *et al.*, 2010).

Uma vez que a captura extrativista dos peixes não supre a demanda por alimentos, a intensificação da produção piscícola fazendo uso de técnicas de propagação artificial para incrementar a produção de alevinos são gradativamente mais utilizadas. Porém, cada vez mais são exigidas técnicas sustentáveis durante este processo. (ANDRADE *et al.*, 2003).

Existe uma diversidade de técnicas para realizar indução reprodutiva em peixes e em sua grande maioria se utilizam indutores que são injetados pelas vias intramuscular ou intraperitoneal. Na maioria das criações utiliza-se a hipófise desidratada de carpa (EPC), que é aplicada em forma de extrato bruto diluída em solução fisiológica. A ovulação ocorre entre 12 a 14 horas após o período de indução, porém deve-se levar em consideração a espécie utilizada, o estágio de desenvolvimento, bem como a temperatura da água que podem influenciar diretamente no tempo da ovulação. A extrusão dos ovócitos e dos espermatozoides é feita através da compressão abdominal, a fecundação é externa onde os gametas entram em contato, são hidratados e colocados em incubadoras, onde ocorrerá a eclosão dos ovos (ANDRADE *et al.*, 2003).

2. DESCRIÇÃO GERAL DO LOCAL DE ESTÁGIO

O estágio foi realizado no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce – LAPAD (FIGURA 1), situado na cidade de Florianópolis, estado de Santa Catarina, Rodovia SC 406 – km 3, nº.3532 – Lagoa do Peri.



Figura 1. Localização do Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce – LAPAD, Florianópolis -SC.

O LAPAD pertence ao Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, foi fundado em 1995 e sua estrutura é composta por três blocos (FIGURA 2) sendo dividido em Bloco A destinado aos laboratórios de limnologia e qualidade de água, microscopia e reprodução, atende também ao setor administrativo, a secretaria, salas reservadas aos discentes, apresenta um auditório e uma sala de estudos que serve de apoio aos alunos da graduação, mestrado e doutorado.

O Bloco B é destinado à experimentação, sendo dividido em dois laboratórios principais: o Lagoa e o Oceano, também consta com um almoxarifado, salas de apoio técnico, rações e oficina.

O Bloco C por sua vez, é reservado à fábrica de ração e ao laboratório de bromatologia (LabNutri), que atende principalmente a demanda dos experimentos de nutrição em nível de mestrado e doutorado.



Figura 2. Estrutura do LAPAD composta por três blocos, A, B e C.

Dentre as outras linhas de pesquisa praticadas pelo LAPAD ressalta-se o monitoramento da ictiofauna, distribuição de ovos e larvas de peixes, manejo de operação das turbinas e vertedouros, conservação da diversidade de peixes migradores, avaliação da diversidade genética, desenvolvimento de tecnologias de cultivo, caracterização de ambientes e estudos de impacto ambiental e nutrição de organismos aquáticos.

Estas ações estão integradas e apresentam como foco central a produção de conhecimento que subsidie a proposição de estratégias para o monitoramento, o manejo e o cultivo das espécies de peixes do alto rio Uruguai.

3. ATIVIDADES REALIZADAS

3.1 AUXÍLIO NOS EXPERIMENTOS DE MESTRADO

3.1.1 Sequestro de Nitrogênio e Fósforo em diferentes fluxos de água para sistema de aquaponia com piava (*Leporinus obtusidens*) e alface (*Lactuca sativa*).

Aquaponia é a produção de pescado associada à produção de vegetais, principalmente verduras e legumes. Este experimento apresentava-se em fase de desenvolvimento estrutural e delineamento experimental.

Os animais eram alimentados todas as manhãs com ração comercial extrusada (42% PB) de dois milímetros de diâmetro, como rotina eram realizadas biometrias quinzenais para avaliar o desenvolvimento das piavas (*Leporinus obtusidens*), bem como para determinar quais seriam utilizadas em experimento de aquaponia (ideal animais de 100g).

3.2 AUXILIO NOS EXPERIMENTOS DE DOUTORADO

3.2.1 Exigência proteica de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) baseada em aminoácidos digestíveis: ensaios de digestibilidade e crescimento

Experimento de digestibilidade onde estavam sendo testadas diferentes fontes proteicas. Sendo quatro de origem vegetal (farelo de soja, glúten de trigo, glúten de milho e concentrado proteico de soja) e outras quatro de origem animal (farinha de peixe, farinha de carne e ossos, farinha de penas hidrolisadas e farinha

de vísceras) e um controle feito com dieta purificada (caseína, gelatina, amido, premix, mix de óleos e celulose). E em todas as dietas foi adicionado um marcador inerte (óxido de ítrio, Austreng *et al.*, 2000) que passa pelo trato gastrointestinal do animal sem ser digerido. Dietas teste eram formadas por 70% da dieta controle, 30% do ingrediente teste e 0,1% do marcador.

Foram utilizados nove tanques onde cada um recebeu um ingrediente e as repetições eram determinadas por volume de fezes, ou seja, a cada 10 gramas secos de fezes iniciava-se uma nova repetição, totalizando três repetições no tempo por tratamento.

Os animais eram alimentados duas vezes ao dia as 10:00 e as 16:00 “*ad libitum*”, uma hora após a última alimentação dava-se início a limpeza das incubadoras para eliminar quaisquer tipo de sujidades que poderiam estar presentes e interferir nas análises. As 18:00h eram instalados os tubos iniciando as coletas e estas eram realizadas a cada cinco horas: 23:00; 4:00; 9:00.

Foi utilizada a biomassa de 2 kg por tanque, peixes com peso médio de 200 a 250g.

3.2.2 Ovogênese e espermatogênese do suruvi (*Staindachnerinun scriptum*) durante o ciclo reprodutivo em cativeiro

Este trabalho teve como objetivo estabelecer informações relacionadas com o desenvolvimento de células da linha germinativa em cativeiro e com a resposta reprodutiva quando utilizado hormônios sintéticos, além de gerar informações que permitam sua conservação e produção em larga escala.

Para a realização da primeira etapa deste projeto foram utilizados juvenis estocados em caixas de 1000L, cuja ovogênese e espermatogênese serão mensalmente monitorados até a maturação sexual através de estudos histológicos.

Estudos dessa natureza são necessários para o suruvi, devido à ausência de literatura que informe sobre as características estruturais durante o processo de maturação gonadal em cativeiro, informação que é essencial para o desenvolvimento de programas de reprodução artificial e conservação.

Os juvenis com peso médio de $21,12 \pm 0,39$ g foram estocados em duas densidades, 25 e 75 peixes por tanque de 1000L com volume útil de 870L

conectados a um sistema de recirculação fechada de água. Cada tratamento (densidade) contava com três réplicas e o delineamento experimental foi totalmente ao acaso. Os animais eram arraçoados duas vezes ao dia as 9:00 e as 16:00, a alimentação era balanceada, contendo 40% de proteína bruta (PB), oferecida “*ad libitum*” e o seu consumo era registrado diariamente através da contagem dos pellets remanescentes bem como a pesagem dos potes ao final de cada dia.

Os parâmetros de qualidade de água como a temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica eram aferidos diariamente, por sua vez, amônia, nitrito, nitrato, alcalinidade e dureza eram avaliados semanalmente.

3.3 MANUTENÇÃO DO SISTEMA EXPERIMENTAL DE RECIRCULAÇÃO FECHADA

O LAPAD conta com três sistemas independentes de recirculação, cada um com aproximadamente 22mil litros de água, nomeados como sistema azul, amarelo e vermelho. Assim, cada unidade experimental localizada no bloco B seja esta uma caixa de água, uma incubadora ou um tanque de 1000L conta com a opção de ser abastecido por qualquer um dos sistemas permitindo a realização de diferentes experimentos simultaneamente.

Cada unidade experimental conta com uma saída para permitir uma adequada taxa renovação da água. Esta água com metabolitos, restos de ração, fezes e impurezas sai do laboratório por um sistema de tubulação subterrânea e desemboca em um sistema de filtragem através de gravidade.

Primeiramente a água chega ao filtro rotativo autolimpante onde é feita a filtragem de material em suspensão e são extraídas as partículas maiores como resto de ração, fezes e peixes. A sujidade é mandada para fossa enquanto a água limpa vai para o biofiltro, este filtro possui três metros de profundidade, sendo composto por três compartimentos, o primeiro possui casca de ostra usada para corrigir o pH e a alcalinidade da água. O segundo compartimento é mais aerado e possui uma fauna bacteriana, conta com “bio balls”, estruturas de polietileno onde os micro organismos (bactérias nitrificantes) se fixam transformando amônia em nitrito, e de nitrito para nitrato produto que apresenta menor toxicidade para os animais. O

último compartimento trata-se de uma cisterna com um sistema de boias que aciona um conjunto de bombas.

A água usada para reposição no sistema é oriunda da Companhia Catarinense de Água e Saneamento - CASAN e é estocada em duas caixas de 5000L onde passam pelo processo de descloração por evaporação.

A última etapa de filtragem é composta por filtros de areia com granulometria fina para reter as menores partículas de impureza. São feitas retrolavagens diárias para eliminar o excesso de sujeira e o que determina o número destas é a demanda do laboratório com o uso dos sistemas experimentais.

Após esta etapa a água vai para caixas de 5000L, em seguida passa por um sistema de troca de calor utilizado para manter a temperatura constante e finalmente, através de uma motobomba a água voltava para uma caixa na parte superior do bloco B, e novamente por gravidade retornava para as unidades experimentais.

Cabe destacar, que a identificação por cores de cada sistema ajuda a evitar que o material (rede de coleta, baldes, mangueiras, tanque-rede e outros) usado em um sistema não seja usado em outro, evitando assim a propagação de doenças e contaminação de um sistema para outro.

O monitoramento da qualidade de água era realizado diariamente onde era aferido temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, condutividade com aparelho multiparâmetro e semanalmente era analisada amônia, nitrito, nitrato e a cada duas semanas alcalinidade e dureza.

3.4 AUXÍLIO NOS TRABALHOS DE CAMPO

3.4.1 EPAGRI– Campo Experimental de Piscicultura de Camboriú – CEPC

O CEPC atua nas áreas de pesquisa, elaboração de projetos, extensão rural, fomento e ensino no âmbito da piscicultura de espécies tropicais de água doce. A infraestrutura compreende 63 tanques escavados com área média unitária de 200m², três laboratórios (reprodução natural, reprodução artificial e técnicas

avançadas), uma sala de experimentos de pequeno volume, e um laboratório de microbiologia e qualidade de água.

Nos dias 27 e 28 de janeiro uma equipe de campo foi destinada ao CEPC onde foram realizadas algumas atividades tais como transferência de peixes, esgotamento de viveiros, seleção e transporte de reprodutores.

Foi realizada transferência de animais para outros viveiros, separando diferentes espécies e possibilitando uma melhor classificação para o desenvolvimento dos animais, além do posterior esvaziamento do tanque.

Os viveiros foram esgotados (FIGURA 3) pra ser feita a manutenção, retirada do lodo (excesso de matéria orgânica) formado e após seco foi realizada calagem, pois esta melhora a disponibilidade de nutrientes para o fitoplâncton, ajuda a manter o pH da água mais estável, fornece cálcio para o desenvolvimento do zooplâncton e acelera a decomposição e mineralização da matéria orgânica dos sedimentos (VINATEA, 2004). A aplicação de calcário deve ser feita no fundo e laterais do tanque.



Figura 3. Viveiro de reprodutores.

Na seleção de reprodutores foram escolhidos peixes em processo de maturação sexual, machos espermiando e fêmeas com ovos (foi feita inserção de sonda uretral no orifício urogenital e sucção através de seringa para verificar a presença dos ovócitos) (FIGURA 4).



Figura 4. Verificação de fêmeas viáveis para a reprodução.

Os animais foram colocados dentro de uma caixa especial de transporte (FIGURA 5) que mantinha os animais a uma temperatura e aeração constante com oxigênio dissolvido entre 5 a 8 mg/L, além de ser um abrigo contra o sol, a salinidade era mantida em 3ppt (KUBITZA, 1997) e também era realizada adição de gesso na água que tem como função diminuir a perda de íons através do estímulo da produção de muco e consequentemente diminuição do estresse provocado por esse procedimento. Estes animais selecionados foram encaminhados ao Laboratório onde foi realizada a desova e posterior reprodução.



Figura 5. Transporte de peixe vivo.

3.4.2 EPAGRI– Unidade Experimental de Piscicultura UniPis

A UniPis sediada na cidade de Caçador - SC executa projetos visando o desenvolvimento regional da piscicultura comercial. As ações da unidade estão focadas em pesquisas relacionadas à propagação de peixes exóticos e nativos, nutrição e patologia.

Nos dias 10 a 16 de fevereiro foi realizado na UniPis indução, desova, reprodução e alevinagem de curimba, piava e dourado.

A seleção de animais maduros é considerada uma parte essencial para o sucesso da desova. Os critérios utilizados são subjetivos uma vez que dependem da percepção e habilidade da pessoa que o faz, as fêmeas selecionadas são aquelas que apresentam abdome distendido e macio e com a papila genital intumescida e avermelhada, já nos machos é efetuada compressão abdominal e são escolhidos os que são capazes de liberar pequenas quantidades de sêmen (ZANIBONI FILHO & WEINGARTNER, 2007).

A indução hormonal nas fêmeas está diretamente ligada à maturação final dos ovócitos e desova, já nos machos sua importância se dá principalmente no aumento da quantidade do líquido seminal e apresenta relação menor com o

aumento do número de células espermáticas. Foi utilizado o extrato bruto de hipófise de carpa – EPC macerado e diluído em solução fisiológica e por fim aplicado via intramuscular. Foi realizado uma aplicação prévia do hormônio 0,25mg/kg de peso vivo com função de estimular os receptores hormonais após 12-24 horas foi feita a primeira dose (0,5mg/Kg de peso vivo) e 12 horas após a segunda dose (5mg/Kg de peso vivo) sendo esta determinante para o sucesso da desova e somente de 7 – 9 horas após a última dose ocorre a ovulação (ZANIBONI FILHO & WEINGARTNER, 2007).

Foi utilizada a técnica de desova por extrusão (FIGURA 6), as fêmeas tiveram o abdome comprimido facilitando assim a saída dos óvulos pela papila urogenital e os machos tem seus gametas retirados com seringa e permanecem refrigerados até o momento da fertilização. Os gametas femininos e masculinos foram misturados, e adicionado água que culminou na ativação dos espermatozoides e a posterior fertilização dos ovócitos (ZANIBONI FILHO & WEINGARTNER, 2007).



Figura 6. Extrusão de ovos realizada em curimba (*Prochilodus lineatus*).

Logo após os ovos foram destinados a incubadoras e em seguida a eclosão dos ovos e liberação das larvas foi dado o destino necessário para cada uma delas.

As larvas de curimba foram destinadas como alimento vivo pra as larvas de dourado, os dourados também receberam como alimento artêmia salina microcrustáceo bastante utilizado nas fases iniciais de desenvolvimento de peixes. As larvas de piava também recebem náuplios de artêmia uma semana após ser alimentadas com microalgas de água doce.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Estágio Supervisionado em Medicina Veterinária é de suma importância, pois, é um processo de aprendizagem que possibilita a assimilação da teoria e prática, e permite conhecer a realidade do dia a dia que o acadêmico escolheu para exercer além de confirmar a escolha da formação profissional, aprimorar os conhecimentos sobre o assunto, interagir e trabalhar em grupo.

Durante o período do estágio, foi possível compreender a importância das espécies nativas e suas formas de propagação artificial, bem como participar de projetos de mestrado e doutorado onde pude aprender sobre delineamento experimental, e execução de projetos. Também acompanhei o manejo do sistema de recirculação fechada que é de grande importância para a manutenção dos projetos e permanência do laboratório. Aprendi principalmente a importância do trabalho em grupo e que o bom convívio com as pessoas é importante para se tornar um bom profissional.

A atuação do Médico Veterinário na Aquicultura é imprescindível uma vez que trata-se de uma importante atividade econômica, representa uma nova vertente de trabalho, que apresenta um crescimento muito superior as demais atividades do setor de produção animal.

Desta forma pude aproveitar, tanto o conhecimento adquirido no campo quanto em laboratório, sendo tal experiência muito relevante para minha formação.

CAPÍTULO 2
ESTÁGIO NO LABORATÓRIO DE SANIDADE DE ORGANISMOS
AQUÁTICOS – AQUOS – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA -
UFSC

RESUMO

O presente Trabalho de Conclusão de Curso mostra as atividades realizadas no período do dia 17 de março a 10 de maio de 2014 na Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, pelo Centro de Ciências Agrárias, no Núcleo de Estudos em Patologia Aquícola - NEPAQ, no Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos – AQUOS, dentro da disciplina de Estágio Supervisionado Obrigatório da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. As atividades foram desenvolvidas sob a orientação do Prof. Maurício Laterça Martins, com supervisão local do Prof. Dr. Leandro Portz. São contemplados nesse Trabalho de Conclusão de Curso os elementos descritos no Plano de Atividades. Dando ênfase as atividades de patologia e sanidade de organismos aquáticos de águas continentais como o nativo jundiá (*Rhamdia quelen*) e o exótico tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), além de peixes de águas salinas como a sardinha (*Sardinella brasiliensis*), para estas espécies foram executadas a coleta e identificação de parasitas; foi também realizado um treinamento básico em hematologia; participação na elaboração das aulas de atividade complementar, atuando como monitora; e auxílio nos experimentos de mestrado, participando na coletas laboratoriais e de campo.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é a atividade que corresponde ao cultivo de organismos cujo ciclo de vida se dá parcialmente ou totalmente em meio aquático, dentro os quais é possível citar os peixes, crustáceos e moluscos. A piscicultura, cultivo de peixes, é um dos setores da aquicultura que mais cresce no Brasil, conforme o Ministério da Pesca e Aquicultura (BRASIL, 2011) a produção de pescado nacional foi de 1.431.974,4 toneladas e o estado de Santa Catarina manteve-se como maior produtor, com a participação de 13,6% do total produzido.

A piscicultura continental vem crescendo cada vez mais e ganhando força no cenário nacional, sendo os principais peixes cultivados as tilápias (*Oreochromis niloticus*) e carpas (*Cyprinus carpio*), dentre as espécies nativas destaca-se a produção do jundiá (*Rhamdia quelen*) principalmente no sul do país (MPA, 2011).

Porém, muitas vezes, a falta de conhecimento técnico por parte dos produtores faz com que ocorram inadequações de instalações e manejo, culminando na maioria das vezes em doenças parasitárias e/ou infecciosas. Outro grande problema é a falta de fiscalização sanitária dos animais de cultivo, fator que tem contribuído para a disseminação de doenças, principalmente nas fazes iniciais (BALDISSEROTO, 2009).

Dentre as enfermidades, as doenças parasitárias são recorrentes, trazendo grandes prejuízos econômicos e de ordem sanitária que muitas vezes afetam todo o plantel. Dentre os ectoparasitas, podemos apontar a importância do *Ichthyophthirius multifiliis*, também conhecido como “doença dos pontos brancos e/ou ictio”, que pertence ao grupo dos cilióforos (PAVANELLI, *et al.*, 2008).

O íctio é um protozoário parasita obrigatório que acomete o tegumento, as brânquias e pode atingir, com menor incidência, a cavidade oral dos animais, instalando-se entre a derme e epiderme. Quando em grande quantidade, pode levar a hemorragias nos locais parasitados, frequentemente causando mortalidades, sendo necessário, deste modo, diagnóstico, prevenção, tratamento e controle adequado da doença (PAVANELLI, *et al.*, 2008).

Ainda deve-se realçar a presença dos ciliados do gênero *Chilodonella*, que podem ser encontrados tanto no tegumento como nas brânquias, provocando

hipersecreção de muco e fusão das lamelas secundárias, o que pode culminar com a morte do hospedeiro. Ainda entre os parasitos ciliados, o gênero *Trichodina* é frequentemente encontrado na superfície dos peixes bem como nas brânquias, alimentando-se de células epiteliais do hospedeiro, provocando hipersecreção de muco e lesões nos locais parasitados (PAVANELLI, *et al.*, 2008).

No grupo dos platelmintos, os monogenéticos alimentam - se de muco e células epiteliais, porém algumas espécies podem se alimentar também de sangue, os prejuízos estão ligados aos ferimentos causados pelo haptor (estrutura de fixação) que facilita a penetração de agentes secundários como fungos e bactérias (PAVANELLI, *et al.*, 2008)

Dessa forma, por se tratarem de doenças que tem grande potencial patogênico quando não tratadas podem gerar grandes prejuízos sejam eles de ordem sanitária ou econômica.

2. DESCRIÇÃO GERAL DO LOCAL DE ESTÁGIO

O estágio foi realizado no Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos - AQUOS, situado na cidade de Florianópolis, estado de Santa Catarina, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi. O período do estágio se deu do dia 17 de março a 10 de maio de 2014, totalizando 320 horas. Tendo como orientador o Dr. Maurício Laterça Martins.

O AQUOS pertence ao Núcleo de Estudos em Patologia Aquícola – NEPAQ (FIGURA 7) que por sua vez faz parte do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

O NEPAQ é composto por três laboratórios sendo estes: o Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica – LABCAI; o Laboratório de Mexilhões – LAMEX; e o Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos – AQUOS.

Fundado em 2003 o AQUOS atua no diagnóstico do estado de saúde de organismos aquáticos por meio de análises parasitológicas, hematológicas, histológicas e de qualidade de água. Possui projetos nas linhas de: hematologia; parasitologia de peixes; ecologia de parasitos de peixes; estresse e inflamação de peixes; probióticos na aquicultura; imunoprofilaxia e tratamentos alternativos de doenças.

Sua estrutura é composta por duas salas de Bioensaio que são utilizadas para execução de experimentos de mestrado e doutorado, possuindo sistema de recirculação, tanques e filtros ultravioleta. Também se faz presente um laboratório de microscopia, um espaço reservado para estudos, sala de histologia e uma sala para armazenamento de materiais destinados a triagem.



Figura 7. Estrutura do Núcleo de Estudos em Patologia Aquícola – NEPAQ

3. ATIVIDADES REALIZADAS

3.1 AUXÍLIO NOS EXPERIMENTOS DE MESTRADO

3.1.1 Influência da imunização com *Icthyophirius multifiliis* (Fouquet, 1876) sobre a sobrevivência e respostas imunológica e hematológica em *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824).

O projeto tem como objetivo contribuir para o conhecimento da resposta imunológica específica, mediada por anticorpos em *Rhamdia quelen* contra o protozoário *Icthyophirius multifiliis* após vacinação, verificando o efeito de diferentes doses e formas de aplicação da vacina além da viabilidade da utilização da mesma. Tendo como metas padronizar o protocolo para imunização do *R. quelen* contra o *I. multifiliis* e abrir caminho para a utilização da vacina no meio produtivo.

Nos dias 25/03, 31/03, 01/04 e 07/04 foram realizadas coletas de material para posterior análise. Foram realizadas as seguintes atividades: biometria avaliando peso corporal e comprimento total; coleta de muco através de rapado cutâneo, sendo este observado a fresco; coleta de sangue para as análises hematológicas (hemoglobina, extensão sanguínea, contagem de eritrócitos, hematócrito e soro); necropsia retirando brânquias, baço, fígado, coração e rins, posteriormente as brânquias foram fixadas em álcool 70% e os demais órgãos foram fixados em formalina 10% tamponada para serem utilizados na histologia.

3.1.2 Eficácia dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (alecrim pimenta) e *Mentha piperita* (hortelã pimenta) no controle de monogenea em *Oreochromis niloticus*

Este trabalho procura avaliar o uso de substâncias naturais como antiparasitários na produção aquícola. Será avaliada a eficiência de *L. sidoides* e *M. piperita* no controle de parasitos monogenéticos. Foram realizados testes de imobilização dos

parasitos “*in vitro*” com posterior teste “*in vivo*” por meio de banhos terapêuticos em tilápias do Nilo. Com este estudo espera-se determinar quais as doses que efetivamente atuam no controle da infestação parasitária em peixes de cultivo, fornecendo subsídios para a substituição de quimioterápicos por produtos naturais no tratamento de doenças parasitárias.

No período do estágio foi realizado o teste de imobilização utilizando *M. piperita*, foram utilizados arcos branquiais de animais parasitados por monogeneas expostos às seguintes concentrações do óleo essencial: 0 (controle água), 0 (controle água + DMSO), 10, 20, 40, 80, 160 e 320 mg/L. Cada tratamento teve duas repetições e foram realizadas observações a cada 15 minutos para registro do número de parasitos vivos e mortos. A partir destes dados foi determinada a concentração dos óleos essenciais e o tempo de exposição capaz de causar a mortalidade de 100% dos parasitos.

3.2 AUXÍLIO NAS COLETAS DE CAMPO – CENTRO EXPERIMENTAL DE MARICULTURA – CEMar

No dia 27 de maio, foi realizada coleta no Centro Experimental de Maricultura – CEMar, da Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI, localizado na cidade de Penha, estado de Santa Catarina.

Foi realizada coleta de 30 sardinhas (*Sardinella brasiliensis*), (FIGURA 8) primeiramente os animais foram anestesiadas com benzocaína e submetidas à biometria mensurando o comprimento corporal total, comprimento padrão ou “standard”, que leva em conta o comprimento desde a cabeça até o início do pedúnculo caudal, e por fim o peso total.

Após esse procedimento foi feita coleta de sangue por punção do vaso caudal para realização das seguintes análises: hematócrito; glicose; contagem total de células (eritrócitos, leucócitos e trombócitos); e contagem diferencial de leucócitos. Também foi realizada necropsia dos animais os arcos branquiais e o trato digestório, que foram fixados em formalina 5% para posterior análise parasitológica. Foi feito registro do sexo dos animais, bem como de quaisquer anomalias apresentadas.



Figura 8. Biometria de sardinha (*Sardinella brasiliensis*).

3.3 AUXÍLIO NAS AULAS DE ATIVIDADE COMPLEMENTAR.

A disciplina denominada Atividade Complementar em Sanidade de Organismos aquáticos proporciona aos alunos do curso de Engenharia de Aquicultura da UFSC vivência na área de patologia, desenvolvendo o conhecimento prático das principais patologias de animais aquáticos e interagir em grupo aproximando os alunos do docente, dos alunos de pós graduação e graduação de diferentes semestres. Aprender através da interação de teoria e prática contribui para ressaltar a importância da patologia na aquicultura sob os aspectos científicos, acadêmicos, ambientais, econômicos, culturais, sociais e produtivos.

As aulas eram realizadas toda quinta feira das 13:30 às 17:00 horas perfazendo o total de 06 aulas sobre os seguintes tópicos:

- 20/03 Apresentação da disciplina; apresentação dos professores e breve reunião sobre normas do laboratório; vestuário e cumprimento de horário.
- 27/03 Desenho esquemático dos principais parasitos; estudo dos grandes grupos.
- 03/04 Manejo e anatomia; métodos de fixação dos órgãos e diferentes fixadores.
- 10/04 Processamento das amostras de coleta.
- 17/04 Hematologia; coloração de lâminas.

- 08/05 Apresentação de seminários.

3.4 TREINAMENTO BÁSICO EM HEMATOLOGIA.

O estudo da hematologia serve de base para determinar o estado de saúde dos peixes, uma vez que o sangue banha todos os órgãos e tecidos, permitindo dessa forma, o diagnóstico de patologias e indicando prognósticos das condições patológicas.

Para a realização da coleta primeiramente é realizada a contenção mecânica do animal para posterior punção sanguínea (FIGURA 9), sendo esta realizada principalmente na veia caudal situada na parte ventral da coluna vertebral, porém, em casos específicos ela ainda pode ser feita através de punção cardíaca ou branquial.

Após a coleta o sangue é acondicionado em eppendorfs e é utilizado para confecção de extensões sanguíneas que são empregadas para contagem total e diferencial de leucócitos bem como para a contagem total de trombócitos. A contagem total de eritrócitos é realizada através da câmara de Neubauer, e também é realizado o hematócrito, onde o sangue é colocado em capilares de vidro submetidos a centrifugação por 5 a 15 minutos, que indicam a porcentagem de células da linhagem vermelha em um volume total de sangue e podem apontar distúrbios como a anemia (PAIVA *et al.*, 2013).



Figura 9. Punção sanguínea através de veia caudal em jundiá (*Rhamdia quelen*).

3.5 TREINAMENTO BÁSICO EM PARASITOLOGIA.

Posteriormente à coleta sanguínea o peixe é sacrificado através de comoção cerebral ou corte total da coluna vertebral. É realizada inspeção do tegumento, nadadeiras e narinas em busca de ectoparasitos, e em seguida é feita a raspagem do muco utilizando lâminas no sentido crâneo caudal, que são então visualizadas em microscópio óptico (JERÔNIMO *et al.*, 2011).

Na sequência o opérculo é removido para coleta dos arcos branquiais e é feita a necropsia do animal expondo dessa forma os órgãos internos, que podem ser fixados em formalina 5% para detecção de parasitos (ex: estômago e intestino) ou podem ser fixados em formalina 10% tamponada e servir para estudos histológicos (ex: baço, fígado, coração e rins) (JERÔNIMO *et al.*, 2011).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Estágio Supervisionado em Medicina Veterinária é importante, pois, contribui para o desenvolvimento das habilidades e competências, possibilitando ao aluno vivenciar o que foi aprendido na Universidade. Desta forma é possível determinar se sua escolha profissional está de acordo com sua aptidão técnica, podendo ainda ser uma oportunidade para o crescimento pessoal e profissional.

Durante o período do estágio, foi possível compreender a importância das doenças parasitárias em peixes, uma vez que estudos na área ainda são escassos no caso de algumas espécies. Aprendi a importância da hematologia como ferramenta auxiliar para determinar o estado de saúde dos animais e pude acompanhar projetos de mestrado, entendendo como programar e executar um projeto, entretanto os projetos supracitados ainda apresentam-se em fase de andamento e tabulação de dados não apresentando até o momento resultados e conclusões finais.

Nas aulas de atividade complementar tive noções relacionadas com docência, além de acompanhar coletas no laboratório e a campo. Desta forma, o estágio agregou conhecimento teórico prático além de trabalho em grupo, que é um importante exercício para formação de qualquer profissional.

REFERÊNCIAS

- Austreng, E.; Storebakken, T.; Thomassen, M.S. *et al.* Evaluation of selected trivalent metal oxides as inert markers used to estimate apparent digestibility in salmonids. **Aquaculture**, v.188, n.1-2, p.65-78, 2000.
- Andrade, d. R. & Yasui, g. S;. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importancia na producao de peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**.v.27, n. 2, p. 166-172. 2003.
- Baldisseroto, B.; Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. **Ciência Rural**, v.39, p. 291 – 299, 2009.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011**. Brasília: MPA, 60p. 2011.
- Dairiki, J. K. ; Baldessin junior, I. ; Pena, S. V. ; Cyrino, J. E. P.; **Manual Técnico de Extensão - DOURADO - *Salminus brasiliensis***. 2010
- Fracalossi, D.M. ; Zaniboni-Filho, E. ; Meurer, S.; No rastro das espécies nativas. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, 10 out. 2002.
- Gomes, L. C. *et al.* Biology of *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pemelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 179-185, ISSN 0103-8478, 2000.
- Jerônimo, G. T. ; Martins, M. L. ; Ishikawa, M. M. ; Ventura A.S. ; Tavares-Dias,M.; **Métodos para coleta de parasitos de peixes**. Macapá, Amapá: EMBRAPA, (Circular Técnica 39 EMBRAPA). 2011.
- KUBITZA, F.; Transporte de peixes vivos: estratégias permitem minimizar riscos. **Panorama da Aquicultura**. Vol. 7, nº43, set/out. 1997.

Pavanelli, G. C.; Eiras, J. C.; Takemoto, R. M.; **Doenças de Peixes: Profilaxia, Diagnóstico e Tratamento**. 3. ed. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, v. 1. 305 p, 2008.

Paiva, M. J. T. R. ; Pádua, S.B. ; Tavares-Dias, M. ; Egami, M.I. . **Métodos para análise hematológica em peixes**. 01. ed. Maringá: Eduem, v. 500. 140p. 2013.

Vinatea, L. A.; **Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura**: uma revisão para peixes e camarões. 2^a ed. Revisada e Ampliada. Florianópolis: Editora da UFSC, 231 p. 2004.

Zaniboni Filho, E.; Weingartner, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.367-373, 2007.