

# UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE ZOOTECNIA

**ITAMAR ALVES RUFINO** 

PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DO LAMBARI DO RABO AMARELO

(ASTYANAX ALTIPARANAE) SOB DIFERENTES NÍVEIS DE SALINIDADE DA

ÁGUA

AREIA

2021

#### **ITAMAR ALVES RUFINO**

# PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DO LAMBARI DO RABO AMARELO (ASTYANAX ALTIPARANAE) SOB DIFERENTES NÍVEIS DE SALINIDADE DA ÁGUA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de graduado em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Luís Rodrigues

AREIA

2021

#### Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação

R926p Rufino, Itamar Alves.

Parâmetros hematológicos do lambari do rabo amarelo (astyanax altiparanae) sob diferentes níveis de salinidade da água / Itamar Alves Rufino. - Areia:UFPB/CCA, 2021.

45 f. : il.

Orientação: Marcelo Luís Rodrigues. TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Hematologia. 3. Lambari (Astyanax altiparanae). 4. Salinidade. I. Rodrigues, Marcelo Luís. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636 (02)

#### **ITAMAR ALVES RUFINO**

# PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DO LAMBARI DO RABO AMARELO (ASTYANAX ALTIPARANAE) SOB DIFERENTES NÍVEIS DE SALINIDADE DA ÁGUA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de graduado em Zootecnia.

Aprovado em: <u>14 / 12 / 2021</u>.

#### **BANCA EXAMINADORA**

Ment by Mo.

Prof. Dr. Marcelo Luis Rodrigues Orientador – UFPB

Profa. Msc Denise Araújo da Silva Examinadora – IFAL

Profa. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez Examinadora – UFPB

A Deus e aos meus pais, em especial minha mãe, pela dedicação durante todo curso, amor, companheirismo e aconselhamento, DEDICO.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus, pelo dom e graça da vida, por sua infinita bondade em tornar possível meu ingressar no curso, me sustentando durante todo o curso e hoje estar concluindo o mesmo. Agradeço infinitamente por antes de me formar em Zootecnista me formar em dignidade e caráter, através do auxílio de meus pais, minha família e meu Grupo de Oração Vida Nova.

Agradeço a minha mãe, Merivania Alves Rufino, por ser meu sustento e fortaleza, que tanto me aconselhou e orientou. A Senhora é meu maior exemplo de pessoa formada em dignidade e caráter.

Ao meu pai, José Marques Rufino, por sua compreensão e dedicação, se comprometendo e assumindo minhas responsabilidades em minha ausência.

A minha irmã Thamara Alves Rufino Martins, por todos os conselhos, toda ajuda, amizade.

Agradeço a minha noiva, Ismênia Espínola, por toda compreensão em minha ausência durante meu curso e estágio em que estive longe. Agradeço por sua ajuda nos meus estudos, conselhos, correções em trabalhos, por todas as vezes que se disponibilizou em me ajudar, por todo apoio durante o curso e na produção do TCC.

Agradeço imensamente ao meu Grupo de Oração Vida Nova, que esteve comigo do início ao fim do meu curso, me sustentando na caminhada da fé e na perseverança, sendo eles minha família, meus amigos, meu tesouro.

Aos meus colegas e amigos de turma Daniela Gomes, André Silva, Wylke Alves, Rayssa Nobrega, Nelquides Viana, Paloma Gabriela, Raiane Santos, Edgleison, Paulo Júnior, Arinaldo Filho e Ediane Cardoso, obrigado por tantos momentos compartilhados, pelas amizades geradas, toda alegria que vivemos durante essa fase, todo as brincadeiras. Acredito que todos temos o mesmo sentimento de que nos tornamos mais que amigos, nos tornamos uma família, que se alegra com as alegrias e conquistas do outro, que sofre com o sofrimento do outro e que acima de tudo pode contar um com o outro.

Agradeço a Daniela por sua amizade, todos os conselhos, toda ajuda durante o curso e na produção do TCC.

A meu orientador Marcelo Luis Rodrigues, sou muito grato por todo período de convivência, por todo incentivo, por acreditar em mim durante o período do experimento, pela confiando em minha capacidade e responsabilidade.

A todos os membros do Laboratório e do setor de Piscicultura, por compartilhar conhecimento teórico e prático, em especial Tiago técnico do setor, pela ajuda para conduzir o experimento, Neriane, João e ao seu Assis terceirizado do setor.

Agradeço também imensamente a todo corpo docente do Centro de Ciências Agrárias – CCA, UFPB, pela contribuição para minha formação profissional.

Agradeço a Universidade Federal da Paraíba pela oportunidade da realização do curso e pela bolsa de estudos durante o curso.

#### **RESUMO**

O lambari é considerado como espécie com grande potencial para exploração no setor, em razão de suas particularidades como sua alta prolificidade, realização de reprodução em cativeiro e consumo de ração comercial. Objetivou-se avaliar o desempenho zootécnico e parâmetros hematológicos de alevinos de lambari do rabo amarelo (Astyanax altiparanae) em diferentes níveis de salinidade. O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição do setor de Piscicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, no período de 02 de setembro a 23 de novembro de 2021. Foram utilizados 16 aquários com volume útil de 50 litros, com 10 animais por aquário, totalizando 160 animais utilizados durante o experimento, sendo selecionados através do peso médio, que variou de 0,22 g até 0,25 g, e comprimento aproximado de 1 cm. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado de acordo com diferentes níveis de salinidade: 0 ‰, 2 ‰, 4 ‰ e 6 ‰. Para elevar a salinidade de um litro de água, em 1‰, se fez necessário 2,872 g sal marinho sem iodo. O período de adaptação foi sete dias antes no início do experimento. O manejo dos aquários foi realizado semanalmente, com troca de 30% do volume da água de cada aquário, assim como mensuração da temperatura, salinidade e pH. O manejo alimentar foi realizado com ração comercial contendo 32% de PB, triturada a 1mm, sendo fornecido três vezes por dia às 9, 12 e 15 horas. Foram realizadas três biometrias no decorrer do projeto, sendo elas no início, com 30 dias e com 56 dias. No dia da última biometria, foi também realizada a coleta de sangue para realização das análises hematológicas. Para o desempenho zootécnico e parâmetros hematológicos não houve diferença significativa, significando que os lambaris não foram influenciados pela salinidade, apresentando desempenho semelhantes para ambos tratamentos. Esses dados asseguram que os alevinos de lambaris podem ser introduzidos em água com diferentes salinidades aos 21 dias pós eclosão sem risco de mortalidade e sem prejudicar seu desempenho.

Palavras-Chave: hematologia; lambari (Astyanax altiparanae); salinidade.

#### **ABSTRACT**

Lambari is considered as a species with great potential for exploitation in the sector, due to it s particularities as its high prolificity, captive breeding and commercial feed consumption. The objective of this study was to evaluate the performance of yellow tail lambari fingerlings (Astyanax altiparanae) at different salinity levels to evaluate zootechnical performance and hematological parameters. The experiment was conducted at the Nutrition Laboratory of the Fish Farming sector of the Center for Agricultural Sciences of the Federal University of Paraíba, Areia-PB, from September 2 to November 23, 2021. It was used aquariums with a useful volume of 50 liters, with 10 animals per aquarium, totaling 160 animals. The fish were selected within an average weight ranging from 0.22 g to 0.25 g and length of approximately 1 cm. The different salinity levels used were 0 ‰, 2 ‰, 4 ‰ and 6 ‰, distributed by a completely randomized design. To raise 1‰ in a liter of water, it was necessary 2,872 g sea salt without iodine. The adaptation period was seven days before the beginning of the experiment. The aquariums were handled weekly, with a change of 30% of the water volume of each aquarium, as well as measurement of temperature, salinity and pH. The food management was carried out with commercial diet containing 32% CP, crushed at 1mm, being supplied three times a day at 9, 12 and 15 hours. Three biometrics were performed during the project, which was at the beginning, with 30 days and with 56 days. In the last biometrics, blood collection was performed to perform hematological tests. There was no difference in zootechnical performance and hematological parameters, suggesting that lambaris were not influenced by salinity. These data ensure that lambaris fingerlings can be introduced at 21 days post-hatching in different salinity water without risk of mortality and without impairing their performance.

**Keywords:** hematology; lambari (*Astyanax altiparanae*); salinity.

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Caracterização da espécie	12
2.2 Salinidade da água	13
2.3 Hematologia	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Local do experimento	19
3.2 Animais Utilizados	19
3.3 Reprodução	20
3.4 Manejo das larvas	22
3.5 Montagem do experimento	22
3.6 Salinização da água	24
3.7 Manejo dos aquários	25
3.8 Manejo alimentar	25
3.9 Qualidade da água e biometria	27
3.10 Parâmetros analisados	28
3.11 Colheita de sangue, preparo e análises	29
3.12 Análise Estatística	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41

# 1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui condições favoráveis para o crescimento sustentável da Aquicultura, em virtude do clima favorável e ampla disponibilidade de água. Esses fatores fornecem ao país a capacidade de atingir posição de mérito, tornando possível competir com grandes produtores de peixes de água doce, incluindo China, Bangladesh, Chile, Egito, Índia, Indonésia, Noruega e Vietnã (FOGAÇA, 2020).

De acordo com Francisco de Medeiros, presidente da Associação Brasileira da Piscicultura (Peixe BR), o Brasil deve ser tornar o maior produtor de peixes de cultivo em 20 anos, com liderança na produção da tilápia (PEIXESBR, 2021). Segundo Fogaça (2020), a posição mundial do Brasil possuía em 2020 era de 13ª na posição em cultivo de peixes em cativeiro e 8ª na posição em produção de peixes em água doce. Considerando-se apenas a produção de tilápia, o Brasil se encontra na 4ª posição, ficando à frente da China como líder, seguido da Indonésia e Egito (PEIXESBR, 2021).

O Anuário Peixe BR 2021 aponta que, embora o ano de 2020 tenha sido marcado por incertezas e desafios, a piscicultura brasileira obteve crescimento de 5,93%, com produção de 758.006 toneladas em 2019 para 802.930 toneladas em 2020. De acordo com a Associação Brasileira da Piscicultura, o desempenho observado para o ano de 2020 foi o segundo melhor desempenho desde 2014 (PEIXESBR, 2021).

A aquicultura tem se evidenciado na eficiência e produtividade de alimentos saudáveis, com competitividade e sustentabilidade, contribuindo consideravelmente com a criação de emprego e renda, atenuando os efeitos da pobreza e fome (SIQUEIRA, 2018).

Conforme o relatório The State of World Fisheries and Aquaculture (FAO, 2012), a produtividade oriunda da pesca estabilizou nos anos de 1980 em 80 milhões de toneladas/ano, enquanto que a aquicultura superou esse volume de produtividade nos anos de 1990 e desde então mais que triplicou sua produtividade, se tornando responsável por metade do consumo mundial de peixe.

Esse vertiginoso crescimento da aquicultura desde os anos de 1980 foi embasada na incorporação de modernas técnicas de produção, que apresentavam custos mais acessíveis, com ganhos relevantes e proteína de qualidade.

O lambari, que era visto como invasor de viveiros destinado a piscicultura, hoje em dia é considerado como espécie com grande potencial para exploração no setor, em razão de suas particularidades como sua alta prolificidade, realização de reprodução em cativeiro, consumo de ração comercial, desenvolvimento precoce e adaptação a variações de temperatura do meio aquático. Além das características produtivas, o lambari é facilmente encontrado e adaptado a grande parte do território brasileiro. Outro ponto interessante para o sistema de produção é que, além de ser bastante aceito e apreciado como petisco, o lambari também é muito utilizado como isca viva para a pesca, de modo a abrir um leque de ampla comercialização da produção.

Os peixes do gênero *Astyanax* são bastante utilizados como instrumento de pesquisa com o objetivo de avaliar áreas como densidade de estocagem, sistemas de produção, reprodução, distribuição territorial, comportamento alimentar, padrões genéticos, hábito alimentar, e indicadores de contaminantes do meio aquático (ANDRIAN *et al.*, 2001; HAUSDORF *et al.*, 2011; PRADO *et al.*, 2011; PERES *et al.*, 2012; AZEVÊDO, 2018; BARBIERI *et al.*, 2019).

A salinidade da água é alvo de pesquisa em outras espécies de peixes, que demonstram como sua interferência pode ser positiva ou negativa, de acordo com a concentração, fase dos peixes, e período de adaptação. De acordo com Altinok *et al.* (2001), a salinidade da água pode interferir positivamente no metabolismo e os processos osmorregulatórios, melhorando o desempenho dentro da medida adequada. No estágio larval, para outras espécies como trairão, pintado, pacamã e tilápia, a salinização da água mostra resultados de desempenho semelhante ou melhores que aos observados em água doce, sendo sugerido que isso se deu em decorrência do aumento no consumo de alimento vivo (náuplio de artémia), que sobrevive mais tempo na água salinizada quando comparado à água doce (LUZ e PORTELLA, 2002; WEINGARTNER e ZANIBONI FILHO, 2004; LUZ e SANTOS, 2010; JOMORI *et al.*, 2013).

Os parâmetros hematológicos são utilizados como indicadores de fatores ambientais e da saúde de organismos (SERIANI *et al.*, 2010). Desse modo, a realização de análise hematológica tem como função classificar e avaliar a qualidade do ambiente no qual o organismo está inserido, evidenciando assim a presença de contaminantes no meio (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013).

O objetivo deste estudo foi delimitar a tolerância do lambari em água salobra, por meio da realização análises hematológicas.

#### **2 REVISÃO DE LITERATURA**

#### 2.1 Caracterização da espécie

A nomenclatura do lambari do rabo amarelo, *Astyanax altiparanae*, foi atribuída em decorrência de uma nova revisão efetuada por GARUTTI e BRITSKI (2000). Essa nova nomenclatura foi concedida em decorrência a necessidade de uma revisão ao gênero Astyanax, uma vez que *Astyanax bimaculatus*, como era mencionado, correspondia a pelo menos 20 espécies que apresentavam padrão de cor semelhante (GARUTTI & BRITSKI, 2000). De acordo com FROESE e PAULY (2011), citado por (PERES *et al.*, 2012) o gênero Astyanax abrange mais de 100 (cem) espécies de Characidae, distribuídos entre a Argentina à fronteira do México com os Estados Unidos.

O lambari do rabo amarelo apresenta pequeno porte, com nadadeira caudal amarela. Ele pertence à ordem Characiformes, da família Characidae, que contém a maior parte dos peixes de água doce do Basil. O gênero *Astyanax*, apresentando mais de 80 espécies, tem distribuição desde os Texas nos Estados Unidos até a Argentina, sendo o gênero mais considerável do Brasil com ampla distribuição geográfica (DALA-CORTE, 2010; LUCENA & SOARES, 2016; VALLADÃO *et al.*, 2018).

Os peixes neotropicais são peixes de águas doces encontrados entre a América do Sul e América Central. Esses peixes correspondem a um único grupo primário que corresponde a 75% das espécies de peixes de água doce neotropicais, que são divididos nas ordens Characiformes, Siluriformes e Gymnotiformes. A ordem Characiforme possui mais de 2.000 espécies e está distribuída entre a América do Sul, Central e do Norte, chegando até o Texas (BALDISSEROTO *et al.*, 2014).

De acordo com ANDRIAN et al. (2001), a espécie é onívora, com predisposição insetívora, em razão da presença de sementes, frutos, algas, macrófitas, insetos aquáticos e terrestres, encontrados no estômago do lambari. O lambari é encontrado em todo o território brasileiro e antes era visto como espécie invasora dos viveiros destinados à piscicultura e causador de problemas no desempenho das espécies cultivadas (GARUTTI, 2003). Passou a ser considerado espécie com potencial para

produção da piscicultura em virtude de suas características (ABIMORAD & CASTELLANI, 2011).

O lambari apresenta dimorfismo sexual, com fêmeas evidentemente maiores que os machos, que por sua vez, são mais alongados e apresentam nadadeira anal áspera, tornando possível sua identificação (PORTO-FORESTI *et al.*, 2001). Com seu crescimento precoce, o lambari alcança maturidade sexual em média aos 4 meses, com os machos variando entre 7 a 9 cm e as fêmeas entre 9 a 12 cm de comprimento (BALDISSEROTTO & GOMES, 2010).

#### 2.2 Salinidade da água

A resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) de Nº 357, de 17 de março de 2005, regulamenta as condições e padrões de qualidade das águas, define os níveis de salinidade para água doce com concentração igual ou inferior a 0,5 ‰ (partes por mil); água salobra com concentração superior a 0,5 e inferior a 30 ‰; e água salgada com concentração de salinidade igual ou superior a 30 ‰. (CONAMA 357, 2005).

Na região do semiárido paraibano é comum constatar concentrações de salinidade da água acima dos níveis descritos pelo CONAMA, o que ocorre muitas vezes em decorrência de solos cristalinos. Em análises mensais de salinidade da água dos açudes Epitácio Pessoa (que abastece Campina Grande e outras cidades) e açude Araçagi (que abastece municípios da Microrregião do Seridó Oriental Paraibano), entre o período de fevereiro a julho de 2018, a média aritmética foi calculada e foi constatado que a água de ambos os açudes são salinas e necessitam de tratamento para o consumo humano. Outro ponto observado foi que a salinidade variou entre o período de análise entre 0,27 a 1,14 psu (escala prática de salinidade), variação essa que pode ser influenciada pela presença ou ausência de chuvas, de modo a concentrar mais sais com a evaporação e escassez de chuvas ou diluir com as chuvas (CHAVES et al., 2018).

O efeito da salinidade é um parâmetro muito estudado especialmente na fase de larvicultura de espécies nativas, neotropicais e estenalinas, avaliando a sobrevivência e desempenho. Nessas análises durante essa fase, o alimento fornecido são náuplios de Artemia, que apresentam maior viabilidade em água levemente salinizada, promovendo mais tempo de obrevivência e consumo pelas larvas (LUZ e PORTELLA, 2002; WEINGARTNER e ZANIBONI FILHO, 2004; LUZ et al., 2008).

O efeito da salinidade sobre os organismos aquáticos está diretamente interligado a sua concentração na água, que por vez, influencia na regulação osmótica dos peixes, demandando custo energético, que pode refletir no desempenho e crescimento dos peixes (ALTINOK *et al*, 2001).

As espécies estenalinas são organismos que possuem limitada tolerância as variações da salinidade, não sendo capazes de sobreviver em concentrações elevadas de sal, isso porque os efeitos para essas espécies são maiores (ALTINOK *et al.*, 2001). Luz et al. (2008) verificaram os efeitos da salinidade nas diferentes fases de desenvolvimento e relatam que estes estudos têm crescido para as espécies estenalinas e neotropicais. Observaram que, mesmo em concentrações isotônicas de 9 ‰ ou menores, os efeitos da salinidade nas espécies estenalinas são maiores que nas espécies eurialinas (ALTINOK *et al.*, 2001).

A salinidade em 6 ‰ não contribui negativamente com os índices de sobrevivência em peixes estenalinos (ALTINOK *et al.*, 2001), enquanto que nas concentrações de 9 ‰ apresentaram aumento na mortalidade, que teve como ocorrência dificuldade na realização da osmerregulação e aumento nos níveis de sódio nos fluidos corporais. Salaro et al. (2012) observaram que ocorreu alta taxa de canibalismo no tratamento com concentração a 9 ‰, possivelmente associado ao estresse devido à alta salinidade. Jomori *et al.* (2012) identificaram que larvas de pacu submetidas ao desafio de salinidade de 2,0x10-9 a 1,4x10-8 ‰, apresentaram mortalidade de 58,4% em salinidade de 8,0x10-9 ‰, 100% de mortalidade em 8 horas com salinidade de 10x10-8 ‰, e 100% de mortalidade em 2 horas para salinidade de 1,2 e 1,4x10-8 ‰.

Os valores de sobrevivência e tolerância observadas na literatura confrontam com os dados referentes ao desempenho e sobrevivência das espécies estenalinas, que mesmo em fase adulta não sobrevivem a amplo período de tempo em salinidades

de 10 ppt, significando dizer que a espécie suporta até 9 ppt, porém com efeitos colaterais a sobrevivência (JOMORI *et al.*, 2012).

Em peixes dourados, LUZ et al. (2008) observaram que o aumento da salinidade contribuiu para um leve aumento no consumo de náuplios na concentração de 2 ‰, enquanto que para salinidade de 6 ‰, ocorre redução, que se torna ainda mais evidente nos níveis mais elevados de salinidade. Com o aumento da salinidade para 6 ‰ também foi identificado redução no desempenho para a conversão alimentar.

O nível de tolerância a baixa salinidade e consequentemente sua ação sobres os peixes não é pontual, sua variação a níveis de tolerância, ação no desempenho dos organismo está parece estar intrinsecamente ligada a fatores genéticos (ALTINOK et al., 2001). Por exemplo, em alevinos de carpa cabeça-dura (*Aristichthys nobilis Oshima*), a salinidade letal mediana variou em função da idade pós-nascimento; a salinidade média letal foi de 2,3 ‰, 6,0 ‰ e 7,6 ‰ para 11, 18 e 35 dias respectivamente (GARCIA et al., 1999).

#### 2.3 Hematologia

A hematologia é o estudo do sangue e seus parâmetros hematológicos com base em condições normais e anormais. De acordo com Raizani-Paiva (2007), o sangue é composto de 90% de água, 7% de proteínas, e células sanguíneas (eritrócitos, leucócitos e trombócitos). O sangue é um tipo especial de tecido conjuntivo crucialmente importante para as funções vitais do organismo, transportando substâncias essenciais nas células de todos os órgãos. Desse modo, os parâmetros sanguíneos podem indicar a saúde dos peixes, a qualidade do ambiente em que estão inseridos, assim como o efeito do estresse e de parasitos (TAVARES-DIAS, 2009).

Entre as células do sangue, os eritrócitos são as células encontradas em maior quantidade no sangue, seu tamanho e concentração podem variar entre espécies e condições fisiológicas a qual indivíduos da mesma espécie estão submetidos (THRALL, 2007). Os eritrócitos têm como função realizar o transporte de oxigênio e gás carbônico, entre órgãos respiratórios e demais tecidos, por meio combinação do

oxigênio com a hemoglobina e posterior troca pelo gás carbônico tecidual (TAVARES-DIAS, 2009). Segundo Thrall (2007), os eritrócitos maduros de peixes apresentam formato oval a elíptico, o citoplasma eosinofílico é pálido e abundante, o seu núcleo vai de oval a elíptico, podendo ocupar até um quarto do volume celular.

Os leucócitos são células responsáveis pela defesa do organismo e apresentam ampla variação entre as diferentes espécies de peixes, de modo que comumente ocorre confusão e controvérsias quando são comparadas com as mesmas células de aves e mamíferos, em esfregaços corados pelo método de Romanowsky (THRALL, 2007).

Os neutrófilos dos peixes ósseos tendem a ser de arredondados a levemente ovais, apresentando núcleo excêntrico que pode variar, nas células maduras, entre formas arredondadas, ovais e alongados (bastonetes) ou segmentados, geralmente contendo dois a três lóbulos. O citoplasma dessas células é abundante, podendo ser incolor, acinzentado ou com coloração levemente acidófila (rosa-claro). Em peixes, os neutrófilos e heterófilos atuam nas respostas inflamatórias, em alguns casos sendo fagocíticos (THRALL, 2007).

Em algumas espécies de peixes ósseos, os eosinófilos raramente são registrados em esfregaços. São granulócitos variando de intermediários a grandes, com grânulos eosinofílicos distintos e citoplasma azul claro e núcleo variando entre arredondado a segmentado. Em condições normais, a concentração de eosinófilos varia entre 0 a 3% do total diferencial leucocitário e, juntamente com os neutrófilos, heterófilos e macrófagos atuam frente a respostas inflamatórias, porém com aparente limitação em realizar fagocitose (THRALL, 2007).

Os basófilos são células arredondadas com grânulos citoplasmáticos basofílicos, geralmente se sobrepõem ao núcleo, que é grande e arredondado (THRALL, 2007). De acordo com SATAKE et al. (2009) e MACIEL et al. (2016), essa célula não apresenta função definida em peixes, porém podem acredita-se que podem realizar fagocitose.

Entre os diferentes tipos de leucócitos, os linfócitos são os mais abundantes no sangue periférico. Em condições normais de saúde dos peixes, sua concentração pode variar de 60 a 85% do total diferencial leucocitário em algumas espécies. Sua

morfologia é arredondada, com alta razão nucleo:citoplasma (N:C). A atuação dos linfócitos se dá sobre a imunidade humoral e celular (THRALL, 2007).

Os monócitos são registados nas maiorias das espécies de peixes, assemelhando aos monócitos de aves e mamíferos. Os monócitos são basicamente leucócitos grandes, mononucleares, com citoplasma granular variando entre azulacinzentado a azulado abundante, podendo ou não conter vacúolos. Em peixes com condições normais de saúde, a concentração de monócitos é inferior a 5% do total diferencial leucocitário. São células ativamente fagocíticas, agindo em respostas inflamatórias aguda e em possíveis casos de agentes infecciosos (THRALL, 2007).

Os trombócitos são células menores que os eritrócitos, seu formato pode variar de acordo com a maturação ou grau de reatividade da célula, indo então de arredondadas, a alongadas ou fusiformes. As células maduras são ovais ou alongadas, e os trombócitos imaturos são arredondados. (THRALL, 2007).

A realização da análise clínica hematológica tem importante papel no combate a problemas sanitários na piscicultura, pois essa análise permite identificar os níveis de defesa do organismo e assim tornar possível solucionar falhas no sistema de produção (SATAKE *et al.*, 2009).

De acordo com Ranzani-Paiva (2013), os parâmetros hematológicos podem ser influenciados por fatores como: densidade populacional, presença de endo e ectoparasitas, bactérias, fungos e vírus potencialmente patogênicos, além de alterações químicas e físicas na qualidade da água, presença de agentes tóxicos, manejo periódico inadequado e dieta não balanceada. Todos estes fatores acarretam em uma série de alterações nos componentes que constituem o sangue, que pode variar de acordo com cada espécie.

O eritrograma é uma análise do sangue que consiste em realizar análises de contagem de eritrócitos, determinação do hematócrito, da taxa de hemoglobina, realização de cálculo para obter o volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (RANZANI-PAIVA et al., 2013), sendo assim o eritrograma tem como função contribuir na identificação de processos anêmicos (TAVARES-DIAS, 2009). Por outro lado, o leucograma é uma análise do sangue voltada para a contagem relativa e absoluta dos

diferentes leucócitos e da contagem de trombócitos (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013), com isso, o leucograma tem como função contribuir para o diagnóstico de infecções e desequilíbrio homeostático (TAVARES-DIAS, 2009).

# **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### 3.1 Local do experimento

O trabalho foi realizado no Laboratório de Piscicultura, do Departamento de Zootecnia, no Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, localizado no município de Areia – PB, no período de 02 de setembro a 23 de novembro de 2021.

#### 3.2 Animais Utilizados

Foram utilizados 160 alevinos de lambari do rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*), para povoar os aquários. Inicialmente foi realizada a seleção dos reprodutores que seriam utilizados para realização da reprodução, com isso, foi observado nas fêmeas se apresentavam ovócitos ao realizar massagem em sua região abdominal e para os machos se apresentavam forte característica de aptidão a realização da reprodução através da forte presença de característica áspera na nadadeira abdominal, método esse de reconhecimento e identificação dos lambaris machos.

Com a seleção dos reprodutores, os animais foram anestesiados com dosagem de óleo de cravo diluído em álcool 70% para reduzir sua característica hidrofóbica. A dosagem do óleo de cravo diluído foi manipulada na proporção em que era possível observar os estágios de indução dois e três, correspondentes a perda parcial do equilíbrio, natação errática e perda total do equilíbrio, assim como ausência de movimentos das nadadeiras e respostas a estímulos táteis, respectivamente. A proporção utilizada para anestesiar os lambaris foi semelhante à concentração sugerida de 50mg L-1 diluído em 300mL como mencionado na metodologia de SILVA et al. (2009).

#### 3.3 Reprodução

Para indução da reprodução, foi manipulado hormônio comercial liberador de gonadotrofinas, assim como utilizado por Andrade. (2012) e Rojas *et al.*, (2017) para avaliar sua eficiência, com níveis de garantia que podem ser observados na tabela 1. Sua ação é de estimular a hipófise anterior a secretar LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo estimulante). A administração do hormônio foi realizada por meio de seringa e agulha de insulina, através da inserção realizada na porção basal da nadadeira lateral dos reprodutores, como observado na figura 1. Foi administrada dose única na proporção de 0,1 mL, introdução no sistema destinado a reprodução, com temperatura de 26 graus e fotoperíodo de 12 horas, durante o período como pode ser observado no sistema de incubadora, na figura 2.

**Tabela 1.** Níveis de garantia do hormônio comercial utilizado.

Solução	Participação para cada 10 mL do produto
Acetato de Buserelina	0,042 mg
Veículo aquoso	10,00 mL
F . O	

Fonte: Ourofino



Figura 1. Aplicação de hormônio nos reprodutores

Fonte: Arquivo pessoal





#### 3.4 Manejo das larvas

Um dia após a aplicação do hormônio, verificou-se a presença de ovos das matrizes com intervalo de três dias. Visando a viabilidade das larvas da primeira desova, foi realizada a coletada das larvas no dia 06 de setembro de 2021, através do esvaziamento do recipiente coletor de ovos e larvas o qual é utilizado para a reprodução de peixes em laboratório. Para a coleta foi utilizado um balde que possuía na parte superior da sua parede um revestimento de tela, para a passagem da água e retenção das larvas.

As larvas foram mantidas em uma caixa d'água sem salinidade por 20 dias. Durante esse período foi feito o fornecimento de alimentação natural, fitoplânctons e zooplânctons, coletados no viveiro do setor, devidamente preparados e adubados para produção do alimento natural. A alimentação foi fornecida ad libitum, duas vezes ao dia, sendo possível observar a presença de alimento durante todo o dia. A partir do 10º dia antes de fornecer a alimentação natural começou a ser ofertada ração finamente macerada no próprio laboratório e peneirada em peneira de 1 mm, com teor de proteína em 32%, com o objetivo de estimular o consumo e adaptar os animais para a troca do alimento fornecido.

#### 3.5 Montagem do experimento

Para a realização do experimento foi utilizado 16 aquários com capacidade de 60 litros que foram preenchidos com 50 litros de água (sete dias antes da introdução dos alevinos), compostos com tampa de cerâmica visando evitar que animais escapem. Os aquários possuem filtro biológico, aeração realizada 24 horas em todos os tratamentos e fotoperíodo de 12 horas. Os tratamentos foram 0, 2, 4 e 6 ‰ de sal, com distribuição nos aquários realizadas através de delineamento inteiramente casualizado. O período de adaptação foi de 7 dias e a distribuição foi de 10 alevinos por aquário, totalizando 160 alevinos.

Aos 21 dias foram selecionados os alevinos para o início do desafio a salinidade, que para isso tiveram que ser submetidos a jejum de 12 horas. Para tanto,

foram capturados e transferidos para um recipiente de menor tamanho em que foram anestesiados com óleo de cravo seguindo o modelo de Silva *et al.* (2009). Com o objetivo de selecioná-los de modo mais homogêneo possível, os alevinos foram selecionados considerando-se o tamanho e uniformidade dos alevinos, como observado na figura 3.

A aclimatação dos alevinos durou aproximadamente 20 minutos para cada aquário, em que parte da água presente no aquário era introduzida no recipiente no qual se encontravam, com objetivo de aclimatar a temperatura e novas concentrações da água, como observado na figura 4.

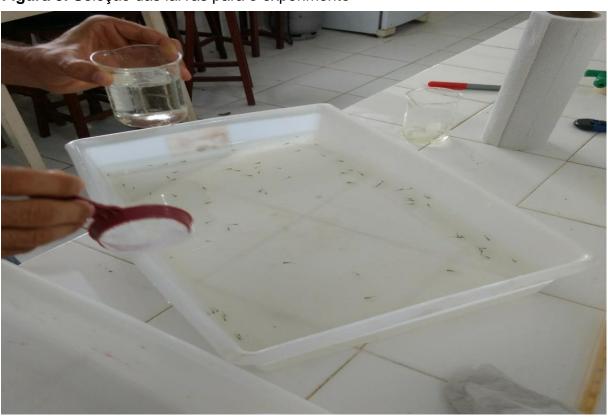


Figura 3. Seleção das larvas para o experimento

Fonte: Arquivo pessoal

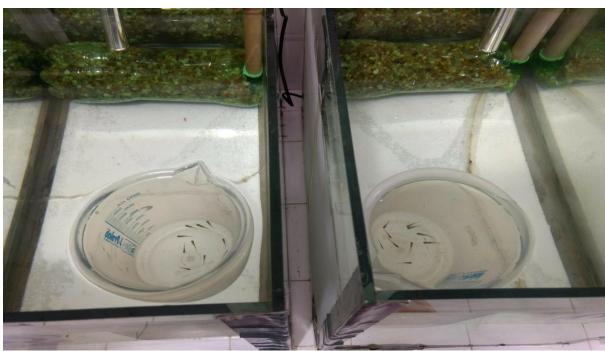


Figura 4. Aclimatação das larvas

Fonte: Arquivo pessoal

# 3.6 Salinização da água

Com o objetivo de evitar o estresse gerado pelo manuseio dos animais para a seleção, distribuição, aclimatação e introdução da salinidade, foi iniciado a introdução e aclimatação a salinidade no dia seguinte à introdução dos alevinos no aquário. A salinidade foi elevada em 2 ‰ ao dia, sendo uma adição de 1‰ no período da manhã e 1‰ no período da tarde. A realização do procedimento durou três dias para alcançar a salinidade de todos os tratamentos que correspondem a 0, 2, 4 e 6 ‰. No quarto dia foram realizadas as correções necessárias na salinidade de cada aquário, que poderia ser de aumentar ou diminuir a salinidade para que os valores da salinidade não ultrapassar 0,1 ‰, seja para mais ou para menos.

Para elevar em 1 ‰ a concentração em 1 litro de água, se fez necessário 2,872 gramas de sal marinho sem íodo, pesado em balança como observado na figura 5. Desse modo para elevar as concentrações necessárias de 2, 4 e 6 ‰ para os 50 litros de água, se fizeram necessário proporções de 143,647 gramas de sal, 301,118 gramas de sal e 449,666 gramas e sal, respectivamente.



Figura 5. Pesagem do sal para a salinização da água e manutenção

Fonte: Arquivo pessoal

#### 3.7 Manejo dos aquários

O manejo dos aquários era realizado em média duas vezes por semana com o objetivo de remover toda sujidade observada decantada no aquário, sendo realizado a renovação de 30% da água, ou sempre que observado que a salinidade da água se encontrava inferior a 0,1 ‰ para cima ou para baixo do valor para a tratamento.

### 3.8 Manejo alimentar

No momento em que os alevinos foram transferidos para os aquários, foi cessado o fornecimento de alimento natural, passando a ser fornecida apenas alimentação comercial macerada no moinho do Laboratório de Nutrição Animal e Análise de Alimentos (LANA), como observado na figura 6. A frequência alimentar dos

alevinos durante o período que perdurou o experimento foi de três vezes ao dia, nos horários de 09:00 horas, 12:00 horas e 15:00 horas, com o fornecimento apenas da ração macerada, que por sua vez apresenta níveis de garantia com base no fornecedor, como é possível observar na tabela 2, abaixo.

**Tabela 2**. Níveis de garantia da ração comercial utilizada no experimento.

Níveis de Garantia	Fração presente da ração
Proteína Bruta (% min.)	32%
Extrato Etéreo (% min.)	4%
Fibra bruta (% máx.)	7%
Matéria mineral (% máx.)	15%
Cálcio (%)	1,2% a 4%
Fósforo (% min.)	0,9%
Umidade (% máx.)	11%
Extrato não nitrogenado (% min.)	30%
Energia Digestível (min.)	3.000 kcal/kg
Vitamina C (ppm)	200 ppm
Vitamina E (ppm)	180 ppm

Fonte: Aquavita

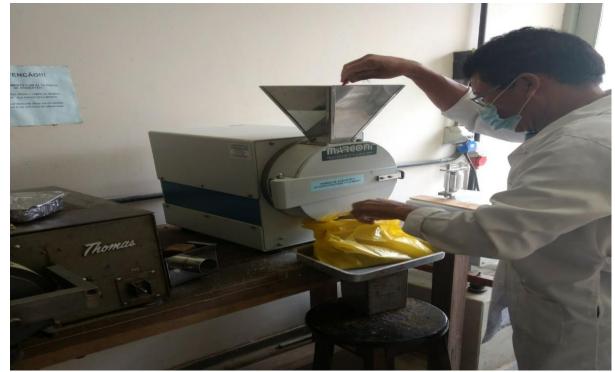


Figura 6. Trituração da ração comercial em moinho para análise bromatológica

Fonte: Arquivo pessoal

### 3.9 Qualidade da água e biometria

A qualidade de água foi avaliada pelos parâmetros físico-químicos incluindo temperatura (°C), pH (unidade padrão) e salinidade em ‰, com o auxílio de sensores digitais como sonda multi parâmetros.

A temperatura inicialmente era mensurada diariamente até que todos os aquários apresentassem valor aproximado de 27°C e depois realizada uma vez por semana. Foi considerada uma margem de variação da temperatura de até 0,5°C para mais ou para menos, em decorrência da precisão dos aquecedores presente em cada aquário.

O pH foi medido inicialmente a partir do 20º dia do experimento e posteriormente semanalmente por meio do pHmetro 3-MT.

Semanalmente era mensurada a salinidade da água pós cada manejo de limpeza e renovação da água, com o objetivo de manter a salinidade dentro dos padrões estabelecidos para o experimento. Para a realização da mensuração era

utilizada a sonda multiparâmetros, modelo ITPH-3000, ME medidor de condutividade e pH/ORP, da INSTRUTEMP.

Foram realizadas três biometrias no decorrer do projeto, sendo a primeira realizada no início para a introdução dos alevinos nos aquários, a segunda biometria após 30 dias e a terceira biometria aos 57 dias. Foi também realizada a pesagem de todo o lote de cada aquário, com o auxílio de um modelo adaptado de puçá de pesca e balança eletrônica, como observado na figura 7. Para evitar influência da movimentação dos alevinos sobre a pesagem, foi administrado óleo de cravo diluído em álcool etílico e misturado em água para anestesiá-los.

Figura 7. Biometria



Fonte: Arquivo pessoal

#### 3.10 Parâmetros analisados

Para a avaliação dos parâmetros produtivos foram levados em consideração os parâmetros:

- Sobrevivência: Quantos animais sobreviveram a salinidade a qual estava sendo desafiado.
- Desempenho zootécnico: Desenvolvimento do animal em ganho de peso e tamanho durante o período que perdurou o experimento.
- Hematologia: Efeitos da salinidade no sangue dos peixes submetidos a cada uma das salinidades.

#### 3.11 Colheita de sangue, preparo e análises

Foi realizada, aos 55 dias do experimento, a coleta de sangue de 50% da população de cada aquário. Também para este procedimento os peixes foram anestesiados com solução diluída de óleo de cravo, com o objetivo de mitigar o estresse e sua movimentação.

A colheita de sangue foi realizada com o auxílio de seringas de insulina descartáveis de 1 mL e agulhas 0,38x13mm, que tiveram o interior umedecido com anticoagulante, sem deixar excesso, para impedir a ocorrência de coagulação. O anticoagulante utilizado foi o ácido etilenodiaminotetracético - EDTA, que impede a agregação dos trombócitos e não deforma os leucócitos. Para a realização da colheita do sangue realizou-se a punção do vaso sanguíneo da região caudal, com a inserção da agulha na região ventral em direção a coluna vertical, conforme metodologia indicada (RANZANI-PAIVA et al., 2013).

Em decorrência do pequeno porte dos alevinos, em algumas repetições se fez necessário a realização de pools, que corresponde a coleta de sangue de vários animais para obter o volume suficiente para realização das análises desejadas.

Seguindo o modelo de Ranzani-Paiva *et al.* (2013), a contagem de eritrócitos foi realizada por meio da diluição do sangue na proporção de 1:200, correspondendo uma parte de sangue para duzentas partes de solução fisiológica a 0,65% (solução essa escolhida entres as opções possíveis). Com a diluição feita, a contagem de eritrócitos foi realizada utilizando a câmara de Neubauer, que é composta por retículo de cada lado da lâmina. Foi realizada contagem da quantidade total de células (desconsiderando trombócitos) em 5 quadrículos, entre os 25 da área destinada a contagem de eritrócitos, como é possível observar na figura 8.

Para obter o valor total de eritrócitos foi realizado o cálculo:

 Número de eritrócitos = Número de glóbulos contados x Diluição (200) x Altura entre a lamínula e câmara (10) x 5 (número de quadrados contados)

Simplificando a formula, ficaria:

Numero de eritrócitos = Número de glóbulos contados x 10.000

A realização do leucograma e trombograma se deu através do método indireto, que consiste na confecção de esfregaço sanguíneo para realizar a contagem dos leucócitos e trombócitos, utilizando os valores dos eritrócitos contados na câmara de Neubauer, de acordo com Ranzani-Paiva *et al.* (2013) e segundo Pitombeira e Martins (1966) e Hrubec e Smith (1998).

Foram confeccionados três extenções sanguíneas por repetição, sendo coradas com corante de Leishman, como é possível observar na figura 9. O procedimento indicado por Ranzani-Paiva et al. (2013) é de cobrir a esfregaço com gotas do corante, esperar 5 minutos e com a mesma quantidade de gotas cobrir o esfregaço com água de coloração e esperar agir por 10 minutos. Imergir as lâminas em água corrente e esperar secar.

A contagem diferencial dos leucócitos realizada pelo método indireto consiste em contar 2.000 células, englobando os eritrócitos e trombócitos, além de todos os diferentes tipos de leucócitos identificados na lâmina. O procedimento adotado tem como objetivo realizar a leitura da lâmina tentando percorrer toda extensão, de modo a não concentrar a leitura em uma única região. Para tanto, o microscópio utilizado foi o modelo de microscópio biovideo, da Bel Photonics® e, para a contagem das células das lâminas, foi utilizado o contador de células sanguíneas CCS-01 da Kacil, como é possível observar na figura 10.

O cálculo para obter o valor absoluto de leucócitos (VAL) por microlitro (µL) segue a fórmula abaixo:

$$V.A.L = \frac{(N^{\circ} \ c\'elulas \ na \ c. \ de \ Neubauer) \times (N^{\circ} \ leuc\'ocitos \ contados)}{2.000 \ (N^{\circ} \ de \ c\'elulas \ contadas \ no \ esfregaço)}$$

Em seguida é estimada a participação em porcentagem dos linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos, heterofilos, leucócitos granular e jovem; seguindo o seguinte exemplo:

$$Porcentagem = \frac{N^{\circ} de \ linf\'ocitos \ contados \ \times 100\%}{N^{\circ} de \ leuc\'ocitos \ contados}$$

O cálculo para o número absoluto dos leucócitos é dado em µL e para isso se faz necessário realizar o cálculo utilizando os valores dos cálculos anteriores, seguindo o seguinte exemplo:

$$N^{\underline{o}}$$
 absoluto de (linfócito) = 
$$\frac{(N^{\underline{o}} \; absoluto \; de \; leucócitos) \; \times (\% \; linfócotos)}{100\%}$$

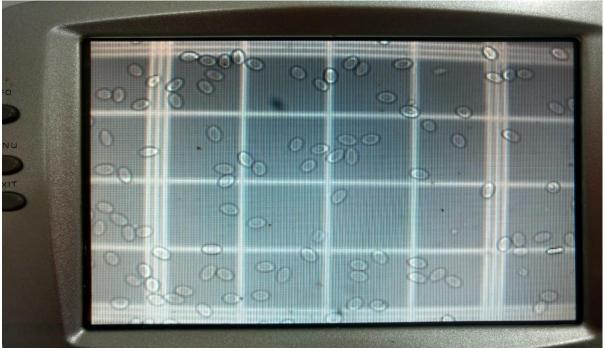


Figura 8. Contagem de eritrócito realizada no quadrículo da câmara de Neubauer

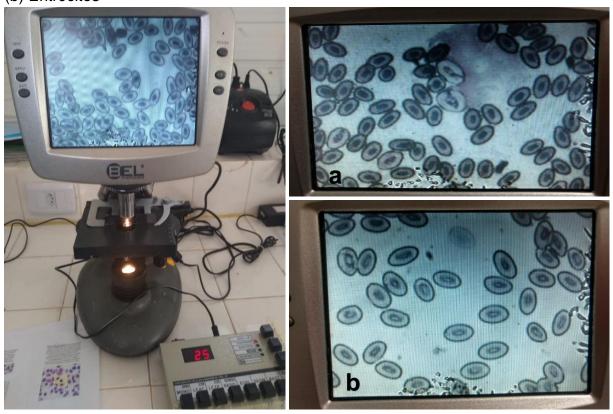
Fonte: Arquivo pessoal



Figura 9. Manipulação do corante de Leishman para corar as estensões sanguíneas

Fonte: Arquivo pessoal

**Figura 10.** Contagem diferencial de leucócitos. (a) Leucócito Granular PAS-positivo (b) Eritrócitos



Fonte: Arquivo pessoal

#### 3.12 Análise Estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos, quatro repetições (cada aquário uma repetição), totalizando 16 aquários.

Os resultados obtidos em experimento foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), com o auxílio do programa SAS (Statistical Analysis System, 2013).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental os animais estiveram em ambiente controlado com oxigenação constante, temperatura, salinidade e pH mensurados semanalmente, com o objetivo de identificar possíveis alterações associadas aos diferentes níveis de salinidade.

Os efeitos da salinidade podem ser observados nas médias correspondentes as repetições das variações de salinidade, que para o ganho de peso e comprimento dos animais, constatou-se que as repetições submetidas as concentrações de salinidade de 0, 2 e 4 ‰, apresentaram melhores os resultados no desempenho, com variações máximas entre tratamentos de 0,32 gramas no peso e 0,40 cm de comprimento, entre os tratamentos, enquanto o tratamento de 6 ‰ apresentou diferença de 0,53 gramas no peso e 0,73 cm de comprimento para a repetição com o segundo valor mais baixo e 0,92 gramas em peso e 1,2 cm em comprimento para a repetição com 0 ‰ de salinidade que obteve os melhores resultados, cujos resultados estão apresentados a seguir na Tabela 3.

**Tabela 3.** Média da evolução zootécnica dos tratamentos

Salinidade	1 <sup>a</sup> Biometria	2ª Biometria	3ª Biometria	Comprimento	Comprimento
(‰)	Média (g)	Média (g)	Média (g)	Inicial (cm)	Final (cm)
0	0,024	0,59	1,63	1,00	5,19
2	0,023	0,52	1,56	1,00	4,97
4	0,024	0,42	1,24	1,00	4,72
6	0,025	0,26	0,71	1,00	3,99

Como pode ser observado na Tabela 4, ao submeter os dados a análise de variância (ANOVA), ao nível significativo de 5% de probabilidade, com base nos diferentes níveis de salinidade, não foi identificada diferença estatística para os parâmetros de crescimento, sobrevivência e ganho de peso dos animais.

Tabela 4. Resumo da análise de variância e Coeficiente de variação (CV) do efeito da
salinidade sobre o comprimento e ganho de peso.

Variáveis	GL	Quadrado médio	Prob (>F)	CV (%)
Peso inicial (g)	1	$0.00001125 _{\text{ns}}$	0.7737 <sub>ns</sub>	4,80
Peso final (g)	1	0.00840 <sub>ns</sub> 0.007247	0.8591 <sub>ns</sub>	31,55
Ganho de peso (g)	1	0.00903 <sub>ns</sub>	0.8546 <sub>ns</sub>	37,23
Comprimento inicial (cm)	1	0,0000001254 <sub>ns</sub>	0,9873 <sub>ns</sub>	17,87
Comprimento final (cm)	1	0,005383 <sub>ns</sub>	0,9965 <sub>ns</sub>	10,75

ns = não significativo. GL – graus de liberdade; CV – coeficiente de variação (%); Prob (>F) valor de probabilidade. Teste F (probabilidade 5%)

Os dados zootécnicos de desenvolvimento em comprimento e ganho de peso corroboram com os dados encontrados por Lima (2019), que não identificou diferença estatística para o ganho de peso de lambaris para ambos os sexos, submetidos a salinidade em concentrações de 0, 2, 4 e 6 ‰. Altinok *et al.* (2001) observaram que para o peixe dourado e o bagre do canal, espécies estenalinas, ocorreu diferença aparente na taxa de crescimento específico sendo maiores em água doce e menores com o aumento da salinidade para 1, 3 e 9 ‰ e destacaram que mudanças na salinidade podem afetar a taxa de crescimento pela alteração do custo energético da regulação iônica e osmótica. Eles ressaltam que peixes maiores da espécie estenalinas poderiam se adaptar melhor à salinidade isotônica, melhorando o desempenho em salinidades mais altas. Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram estes trabalhos, pois mostram que o aumento da salinidade promoveu redução na taxa de crescimento, apesar de não ser significativo nas proporções válidas no presente experimento.

Garcia et al. (1999) constataram que alevinos de carpa-cabeçuda suportam uma faixa muito estreita de mudanças de salinidade, possuindo capacidade limitada na realização de osmorregulação, classificando-as como estritamente estenalinas. O tempo médio de sobrevivência dos alevinos à salinidade está diretamente relacionado à idade e à concentração da salinidade, não constatando diferença significativa na sobrevivência de alevinos com 35 dias pós-nascimento submetidos a concentração entre 0 e 6 ‰. Confrontando os dados de encontrado por Garcia et al. (1999), não a sobrevivência e o desenvolvimento não foram diferentes para alevinos de lambari

submetidos ao aumento gradativo da salinidade aos 21 dias. Luz et al. (2008) avaliaram os efeitos da salinidade sobre a ingestão de alimentos, crescimento e metabolismo de peixes dourados, não identificando interferência na salinidade entre 0 e 6 ‰, para ganho de peso, crescimento padrão e taxas de conversão alimentar, apresentando bons resultados após 21 dias de exposição. Esses dados mostram que é possível introduzir gradativamente os alevinos de lambari mais novos à salinidade, sem afetar a seu desempenho. Este fato torna possível sua utilização doméstica no controle do mosquito Aedes Aegypti e sua utilização para produção em águas salobras, possibilitando sua comercialização precoce para povoamento de viveiros e facilitando o transporte de maior quantidade de animas por metro cúbico de água.

Os dados da contagem de eritrócitos, contagem total e diferencial de leucócitos estão apresentados na Tabela 5, onde constam todas as células identificadas e diferenciadas com o auxílio da câmara de Neubauer e extensão sanguínea, apresentados em função do quadrado médio, com volume em µL, não apresentando diferença significativa em função da salinidade.

Durante todo o período da realização do experimento, a temperatura foi mantida entre 26,5 e 27,5 °C, a salinidade com variação inferior e superior dentro dos limites de 0,1 ‰, com o objetivo de fornecer a mesma condição para todos os tratamentos. A temperatura deve ser mantida com a menor variação possível entre os aquários, pois o metabolismo desses animais está diretamente relacionados com a temperatura da água. Como são pecilotérmicos, o metabolismo é mais acelerado nas horas mais quentes do dia, que corresponde ao período em que a água tende a estar mais quente (MARINHO-PEREIRA *et al.*, 2020), desse modo, manter a temperatura constante tem como objetivo contribuir para atividade metabólica em condições iguais para todos tratamentos.

**Tabela 5.** Resumo da análise de variância e Coeficiente de variação (CV) do efeito da salinidade sobre os parâmetros sanguíneos.

•		5		
Variáveis	GL	Quadrado médio	Prob (>F)	CV (%)
Eritrócitos	1	1.1911985E11 <sub>ns</sub>	0,8918	40,02
Leucocitos Totais	1	140443640 ns	0,9835	47,52
Linfócitos	1	159544248 ns	0,8279	56,37
Trombócitos	1	13705682 ns	0,9391	92,15
Monócitos	1	13718686 ns	0,2328	92,18
Eosinófilos	1	4276536 ns	0,5137	98,07
Basófilos	1	84287994 ns	0,2124	61,9
Heterófilos	1	11253705 ns	0,5601	66,05
Neutrófilos	1	65030154 ns	0,2101	72,90
Leucócito Granular e L. Jovens	1	5657157 ns	0,9742	48,85

ns = não significativo; GL – graus de liberdade; CV – coeficiente de variação (%); Prob (>F) valor de probabilidade. Teste F (probabilidade 5%)

A contagem total e a contagem diferencial de leucócitos não foi diferente entre os tratamentos e repetições. As células identificadas nas extensões sanguíneas foram: eritrócitos, trombócitos, linfócitos, neutrócitos, heterófilos, basófilos, eosinófilos, monócitos, leucócito granular e leucócitos jovens.

A realização das análises de eritrograma e leucograma, se deram para avaliar o efeito da salinidade no sistema sanguíneo dos peixes e avaliar se sua presença levaria a alterações, visto que o sangue é crucialmente importante para as funções vitais do organismo, transportando substâncias essenciais. Burgos-Aceves *et al.* (2019) evidenciaram que o aumento da salinidade pode levar ao estresse osmótico, que por sua vez contribui para alterações na hemoglobina, hematócrito, e no número de eritrócitos circulantes. Os valores da hematologia variam entre espécies e indivíduos da mesma espécie, estando associados a fatores estressantes como temperatura, oxigênio, salinidade, pH, maturidade sexual, maturação gonadal, nutrição, doenças e ciclo sazonal (RANZANI-PAIVA, 1991).

Os níveis de salinidade até concentrações de 6 ‰ não apresentaram alterações no hematócrito, hemoglobina, glicemia e cortisol plasmático, significando que até essa

salinidade não se produz estresse significativo na hematologia para peixe dourado e tambaqui (LUZ *et al.*, 2008; MARINHO-PEREIRA *et al.*, 2020). Os dados encontrados pelos autores corroboram os dados encontrados no presente trabalho, confirmando a ausência de efeito estressante entre os tratamentos e demonstrando que é possível manter alevinos de lambari até a salinidade de 6 ‰ sem efeito deletério ao animal.

O período em que os peixes foram submetidos a níveis crescentes de salinidade foi de 56 dias, sendo mais do que suficiente para que os animais se adaptassem fisiologicamente aos efeitos da salinidade. Luz et al. (2008) enfatizaram que o aumento gradativo da salinidade reduz o estresse osmótico e facilita na aclimatação dos animais as concentrações de salinidade, além disso destacaram que a realização dos parâmetros hematológicos foi feita após um período de 21 dias de exposição a salinidade, período esse denominado pelo pesquisador e colaboradores, como sendo muito longo. Isto evidencia a adaptação dos organismos, resultando em ausência de alterações significativas para a hematologia, em particular hematócrito e hemoglobina, para as diferentes salinidades. Levando em consideração essas informações, é possível inferir que a ausência de variação significativa pode estar diretamente relacionada à aclimatação gradativa realizada e período de vigência do experimento, que tornou possível a adaptação fisiológica dos organismos e consequentemente não sendo possível identificar alterações significativas entre os tratamentos.

Os valores de eritrócitos, trombócitos e leucócitos totais encontrados no presente trabalho são superiores aos encontrados por Pereira *et al.* (2020) para lambari-do-rabo-amarelo submetidos a baixas temperaturas, com fornecimento alimentar quatro vezes ao dia. A discrepância entre os valores encontrados pelo pesquisador e colaboradores, para os encontrados no presente trabalho, podem ser dar em função da diferença em idade dos animais e experimento realizado em que foram submetidos a baixas temperaturas, alterando a composição corporal e parâmetros sanguíneos.

As concentrações mais altas encontradas no presente estudo, para os diferentes leucócitos, podem estar associadas à diferença de idade dos lambaris, já que os animais utilizados no presente estudo eram alevinos e nos outros eram animais

adultos e sexualmente maduros. É possível que os animais mais jovens apresentem metabolismo mais rápido e proporção de células sanguíneas diferente dos adultos.

Pereira *et al.* (2014) analisaram a diferenciação hematológica entre lambaris machos e fêmeas de *A.* bimaculatus, encontrando valores superiores para eritrócitos e inferiores para leucócitos, trombócitos, basófilos, monócitos, linfócitos, neutrófilos e eosinófilo. As diferenças com os dados aqui apresentados podem estar relacionadas à ausência de estresse e manejo, uma vez que os animais foram submetidos a pesagem, e mensuração do comprimento e posterior coleta de sangue, passando duas vezes por anestesia.

Avaliando o efeito de anestésicos sobre a hematologia, Pádua et al. (2013) identificaram que o óleo de cravo utilizado como anestésico causou aumento no número de leucócitos totais, linfócitos, leucócitos granular PAS-positivo, além de causar alterações quantitativas como leucocitoses e hemólises. Oliveira (2016) observou que o manejo de indução anestésica e exposição aérea em *A. altiparanae* contribui para o aumento significativo de hematócrito quando comparado o tratamento controle e tratamento submetido a anestesia e estresse em conjunto. É possível que os altos níveis de eritrócitos e leucócitos totais do presente estudo possam estar relacionados aos efeitos indutivos do anestésico à base de óleo de cravo e do manejo de exposição dos animais ao ar livre para a realização de pesagem e coleta de sangue, contribuindo para o aumento do estresse de animais e aumento na concentração de células sanguíneas. Segundo Pádua et al. (2018), o efeito do óleo de cravo depende do aumento da concentração do anestésico manipulado. Contribuindo para o aumento de leucócitos totais de todos os tratamentos, não sendo possível observar diferença significativa entre os diferentes tratamentos.

# **5 CONCLUSÃO**

Os alevinos de lambari *Astyanax altiparanae* sobrevivem a salinidade de 0 à 6‰.

Os alevinos crescem de maneira igual nos quatro níveis de salinidade testadas.

De acordo com os parâmetros hematológicos não há alterações sanguíneas significativas dos alevinos em diferentes salinidades.

# **REFERÊNCIAS**

ABIMORAD, E. G.; CASTELLANI, D. Amino acid requirements of lambari-do-raboamarelo based on whole body and muscle composition. **Boletim do Instituto de Pesca**, 2011. v. 37, n. 1, p. 31–38.

ALTINOK *et al.* Effects of brackish water on growth, feed conversion and energy absorption efficiency by juvenile euryhaline and freshwater stenohaline fishes. **Journal of Fish Biology**, 2001. v. 59, n. 5, p. 1142–1152.

ANDRADE, Estefania De Souza. Protocolos de indução hormonal em lambari (Astyanax fasciatus) e curimba (Prochilodus lineatus). 2012.

ANDRIAN, I. D. F.; SILVA, H. B. R.; PERETTI, D. Dieta de Astyanax bimaculatus (Linnaeus, 1758) (Characiformes, Characidae) da área de influência do reservatório de Corumbá, estado de Goiás, Brasil. **Acta Scientiarum**, 2001. v. 23, n. 2, p. 435–440.

AZEVÊDO, José Kelvyn Goes de. DENSIDADE DE ESTOCAGEM DE LAMBARI DO RABO AMARELO (Astyanax altiparanae) EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA. 2018.

BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Brasil: Ed. UFSM, 2010. p.101–115.

BALDISSEROTTO, B.; Cyrino, J.; Urbinati, E. Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce. Brasil: Ed. FUNEP, 2014. p.1–6.

BARBIERI, E. *et al.* Metabolic and histological alterations after exposing deuterodon iguape to different salinities. **Boletim do Instituto de Pesca**, 2019. v. 45, n. 2.

BURGOS-ACEVES, Mario Alberto; LIONETTI, Lillà; FAGGIO, Caterina. Multidisciplinary haematology as prognostic device in environmental and xenobiotic stress-induced response in fish. **Science of the total environment**, v. 670, p. 1170-1183, 2019.

CHAVES, Haila Nayara Rodopiano et al.. **Estudo da salinidade das águas das cisternas provenientes dos açudes epitácio pessoa e araçagi - pb**. Anais CONADIS... Campina Grande: Realize Editora, 2018. Disponível em: <a href="https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/50678">https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/50678</a>. Acesso em: 29/11/2021 15:10

CONAMA 357. Resolução CONAMA N° 357, De 17 De Março De 2005\* (Retificada). **Conselho Nacional do Meio Ambiente**, 2005. n. 204, p. 36.

DALA-CORTE, Renato B.; AZEVEDO, Marco A. Biologia reprodutiva de Astyanax henseli (Teleostei, Characidae) do curso superior do rio dos Sinos, RS, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 100, p. 259-266, 2010.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of world fisheries and aquaculture [online]. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS Rome, 2012. Disponível: <a href="https://www.fao.org/3/i2727e/i2727e.pdf">https://www.fao.org/3/i2727e/i2727e.pdf</a>>. Acesso em: 02, nov. de 2021.

FOGAÇA, Fabíola. O protagonismo do Brasil na produção mundial de pescado. **Embrapa**,2020. Disponível: <a href="https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/">https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/53738345/artigo---o-protagonismo-do-brasil-na-producao-mundial-de-pescado>. Acesso em: 30, out. de 2021.

Froese R, Pauly D (eds) (2011) FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (10/2011)

GARCIA, L. M. B. *et al.* Survival and growth of bighead carp fry exposed low salinities. **Aquaculture International**, 1999. v. 7, n. 4, p. 241–250.

GARUTTI, V. 2003 Piscicultura ecológica. São Paulo: Editora UNESP. 332p

GARUTTI, V; BRITSKI, H A. Descrição de uma espécie nova de Astyanax (Teleostei: Characidae) da bacia do alto Rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comunicações do Museu de Ciencias da PUCRS, Série Zoologia*[S.I.], v. 13, p. 65-88, 2000.

HAUSDORF, B.; WILKENS, H.; STRECKER, U. Population genetic patterns revealed by microsatellite data challenge the mitochondrial DNA based taxonomy of Astyanax in Mexico (Characidae, Teleostei). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 2011. v. 60, n. 1, p. 89–97. Disponível em: <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2011.03.009">http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2011.03.009</a>>.

HRUBEC, T.C.; SMITH, S.A. Hematology of fishes. In.: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, M.C. Eds. Schalm's Veterinary Hematology. 5th Edition. Blackburg: Wiley-Blackwell. 1998, p. 1120-1125.

JOMORI, Rosângela K.; LUZ, Ronald K.; CÉLIA PORTELLA, M. Effect of Salinity on Larval Rearing of Pacu, Piaractus mesopotamicus, a Freshwater Species. **Journal of the World Aquaculture Society**, 2012. v. 43, n. 3, p. 423–432.

JOMORI, Rosângela Kiyoko *et al.* Água Levemente Salinizada Aumenta a Eficiência Da Larvicultura De Peixes Neotropicais. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, 2013. v. 48, n. 8, p. 809–815.

LIMA, Arnon Diego Correia Bezerra de. Desempenho do lambari do rabo amarelo (Astyanax altiparanae) em diferentes níveis de salinidade. 2019.

LUCENA, C. A. S. DE; SOARES, H. G. Review of species of the Astyanax bimaculatus "caudal peduncle spot" subgroup sensu Garutti & Langeani (Characiformes, Characidae) from the rio la Plata and rio São Francisco drainages and coastal systems of southern Brazil and Uruguay. **Zootaxa**, 2016. v. 4072, n. 1, p. 101–125.

LUZ *et al.* Growth, food intake regulation and metabolic adaptations in goldfish (Carassius auratus) exposed to different salinities. **Aquaculture**, 2008. v. 276, n. 1–4, p. 171–178.

LUZ, Ronald Kennedy; PORTELLA, M. C. Larvicultura de trairão (Hoplias lacerdae) em água doce e água salinizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2002. v. 31, n. 2 SUPPL., p. 829–834.

LUZ, R. K. et al. Effect of salt addition and feeding frequency on cascudo preto Rhinelepis aspera (Pisces: Loricariidae) larviculture. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 26, n. 3, p. 453-455, 2010.

MACIEL, P. O. et al. Características hematológicas, de espécimes mantidos em laboratório, da espécie de peixe amazônica Astronotus ocellatus (Agassiz, 1831)(Perciformes, Cichlidae), introduzida em outras bacias hidrográficas brasileiras. NovoEnfoque 2016 (21).[INnternet]. **NovoEnfoque**, v. 2016, n. 21, 2016.

MARINHO-PEREIRA, T. et al. ARTIGO 02-Desempenho zootécnico e parâmetros hematológicos de Colossoma macropomum Cuvier, 1822 (Characiformes, Serrasalmidae) criado no sistema BFT em diferentes níveis de salinidade. FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E RECURSOS PESQUEIROS, p. 44, 2020.

OLIVEIRA, Ricardo Henrique Franco de. **Potencial mitigador do óleo de cravo sobre as respostas fisiológicas ao estresse de exposição aérea e de transporte no lambari, Astyanax altiparanae (GARUTTI & BRITSKI, 2000)**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PÁDUA, Santiago Benites de et al. Variáveis hematológicas em tambaquis anestesiados com óleo de cravo e benzocaína. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 1171-1174, 2013.

PÁDUA, Santiago Benites de et al. Respostas hematológicas em tuvira após anestesia com diferentes concentrações de óleo de cravo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 38, n. 3, p. 181-188, 2018.

PEIXESBR. Anuário Peixe BR da Piscicultura 2021. Peixe Br, 2021. p. 140.

PEREIRA, Marina de Olibeira et al. Diferenciação hematológica e biométrica entre machos e fêmeas do lambari do raco amarelo Astyanax bimaculatus. **Instituto Federal Catarinense**, 2014. Disponível em: <a href="https://eventos.ifc.edu.br/micti/wp-content/uploads/sites/5/2014/08/DIFERENCIA%C3%87%C3%83O-HEMATOL%C3%93GICA-E-BIOM%C3%89TRICA-ENTRE-MACHOS-E-F%C3%8AMEAS-DO-LAMBARI-DO-RABO-AMARELO-ASTYANAX-BIMACULATUS.pdf>. Acesso em: 03 de dez. de 2021.

PEREIRA, Mayara da Costa et al. Manejo alimentar no desempenho produtivo de juvenis de tilápia-do-Nilo Oreochromius niloticus e lambari-do-rabo-amarelo Astyanax altiparanae em baixas temperaturas. 2020.

PERES, W. A. M. *et al.* Invasion, dispersion and hybridization of fish associated to river transposition: Karyotypic evidence in Astyanax "bimaculatus group" (Characiformes: Characidae). **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 2012. v. 22, n. 2, p. 519–526.

PITOMBEIRA, M.S.; MARTINS, J.M. A direct method for white blood cell count in fishes. Arquivos da Estação de Biologia Marinha da Universidade Federal do Ceará, v. 6, n. 2, p. 605, 1966.

PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B. Cultivo de lambari: uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, n. 67, 2001. Disponível em: <a href="https://panoramadaaquicultura.com.br/cultivo-do-lambari/">https://panoramadaaquicultura.com.br/cultivo-do-lambari/</a> Acesso em: 25, out. 2021.

PRADO, P. S. *et al.* Reproductive disruption in lambari Astyanax fasciatus from a Southeastern Brazilian reservoir. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2011. v. 74, n. 7, p. 1879–1887.

RANZANI-PAIVA, M.J.T. Características sangüíneas da pirapitinga do sul, *Brycon* sp, sob condições experimentais de criação intensiva. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.28, n.2, p.141-153, 1991.

Ranzani-Paiva, MJ., et al. Métodos para análise hematológica em peixes [online]. Maringá: EDUEM, 2013. ISBN 978-85-7628-653-0. Available from SciELO Books <a href="http://books.scielo.org">http://books.scielo.org</a>.

ROJAS, Jhon Edison Jimenez et al. Aspectos reprodutivos de machos de suruvi Steindachneridion scriptum (Miranda Ribeiro, 1918) na primeira maturação sexual e indução hormonal da espermiação. 2017.

SALARO, A. L. *et al.* Saline water for juvenile giant trahira during feed training. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2012. v. 41, n. 6, p. 1342–1345.

SATAKE, F..; PADUA, S.B.; ISHIKAWA, M.M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In.: TAVARES-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**.1° ed. Macapá: Embrapa Amapá, 2009, p. 330-45

SERIANI, R. *et al.* Hematological analysis of Micropogonias furnieri, desmarest, 1823, scianidae, from two estuaries of Baixada Santista, São Paulo, Brazilian **Journal of Oceanography**, 2010. v. 58, n. SPEC. ISSUE 3, p. 87–92.

SILVA, E. M. P. *et al.* Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. **Ciência Rural**, 2009. v. 39, n. 6, p. 1851–1856.

SIQUEIRA, T. V. De. Aquicultura: a nova fronteira para produção de alimentos de forma sustentável. **Revista do BNDES**, 2018. v. 25, n. 49, p. 119–170. Disponível em: <a href="http://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/16085">http://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/16085</a>>. Acesso em: 01, out. 2021.

Statistical Analysis System, 2013

TAVARES-DIAS, M.et al. **Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo**. In: SARAN NET, A.; MARIANO, W. dos S.; SÓRIA, SFP (Org.). Tópicos especiais em saúde e criação animal. São Carlos, SP: Pedro & João Editores, 2009. p. 43-80., 2009.

The State of World Fisheries and Aquaculture. [S.l.]: [s.n.], 2012.

THRALL, Mary Anna. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. Editora Roca, 2007.

VALLADÃO *et al.* South American fish for continental aquaculture. Reviews in Aquaculture, v. 10, n. 2, p. 351-369, 2018. Disponível em: <a href="http://hdl.handle.net/11449/173212">http://hdl.handle.net/11449/173212</a>>. Acesso em: 28, out. 2021.

WEINGARTNER, M.; ZANIBONI FILHO, E. Efeito de fatores abióticos na larvicultura de pintado amarelo Pimelodus maculatus (Lacépède, 1803): salinidade e cor de tanque. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, 2004. v. 26, n. 2, p. 151–157.