

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/08/2018.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Aspectos morfofuncionais da mioarquitetura
cardíaca e angiologia do ventrículo de
Arapaima gigas (Osteoglossiformes,
Arapaimidae) associados a alteração do
modo de respiração**

Mario Vitor Buzete Gardinal

Biólogo

Jaboticabal, São Paulo

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Aspectos morfofuncionais da mioarquitetura
cardíaca e angiologia do ventrículo de
Arapaima gigas (Osteoglossiformes,
Arapaimidae) associados a alteração do
modo de respiração**

Mestrando: Mario Vitor Buzete Gardinal

Orientador: Dr. Carlos Alberto Vicentini

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Aquática/Aquicultura.

Jaboticabal, São Paulo

2018

G219a Gardinal, Mario Vitor Buzete
Aspectos morfofuncionais da mioarquitetura cardíaca e angiologia do ventrículo de *Arapaima gigas* (Osteoglossiformes, Arapaimidae) associados a alteração do modo de respiração / Mario Vitor Buzete Gardinal. -- Jaboticabal, 2018
vii, 48 p. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP, 2018
Orientador: Carlos Alberto Vicentini
Banca examinadora: Maria Terezinha Siqueira Bombonato, Luis Alberto Domingo Francia Farje
Bibliografia

1. Osteoglossiformes. 2. Respiração aérea. 3. Miocárdio. 4. Vascularização. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura da UNESP.

CDU 639.3:612.2

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

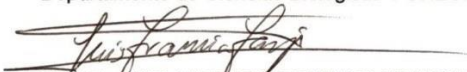
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Aspectos morfofuncionais da mioarquitetura cardíaca e angiologia do ventrículo de *Arapaima gigas* (Osteoglossiformes, Arapaimidae) associados a alteração do modo de respiração

AUTOR: MARIO VITOR BUZETE GARDINAL
ORIENTADOR: CARLOS ALBERTO VICENTINI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AQUICULTURA, área: Biologia Aquática pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. CARLOS ALBERTO VICENTINI
Departamento de Ciências Biológicas / UNESP - FC Bauru



Prof. Dr. LUIS ALBERTO DOMINGO FRANCIA FARJE
. / Faculdades Integradas de Bauru, Bauru-SP



Profa. Dra. MARIA TEREZINHA SIQUEIRA BOMBONATO
Departamento de Ciências Biológicas / FC/UNESP, Bauru

Jaboticabal, 23 de fevereiro de 2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todo suporte emocional e por ter me guiado durante todos estes anos, iluminando meu caminho e me ajudando a tomar as decisões corretas.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini pela sua paciência, dedicação e empenho ao me guiar até aqui. Obrigado por cobrar o melhor de mim e me ensinar a buscar sempre o melhor resultado, mesmo que isso possa custar algumas horas de sono.

À Prof.^a Dra. Irene Bastos Franceschini Vicentini por todos os ensinamentos e conselhos, além de toda colaboração, suporte e revisão do material.

Ao Prof. Dr. Sandro Estevan Moron, Coordenador do Laboratório de Morfofisiologia e Bioquímica de Peixes Neotropicais, da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína, pelo fornecimento dos exemplares.

À Dra. Patricia Oliveira Maciel, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Palmas, Tocantins, pelo fornecimento de exemplares.

À Dra. Eliane Tie Oba Yoshioka, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Laboratório de Aquicultura e Pesca, Macapá, Amapá, pelo fornecimento de exemplares.

À Dra. Lígia Uribe Gonçalves, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, pelo fornecimento de exemplares.

Ao Engenheiro de Pesca Ms. Roger Franzoni Pozzer, pelo fornecimento de exemplares e documentação de processamento de pirarucu.

Ao Laboratório de Morfologia de Organismos Aquáticos – LAMOA, do Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências, Campus de Bauru, UNESP, pelo suporte e infraestrutura para processamento e documentação das amostras.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus Jaboticabal, UNESP, pelo processamento do material em microscopia eletrônica de varredura.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e à Secretaria de Pós-Graduação do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, Campus Jaboticabal, pelo apoio e infraestrutura.

Agradeço muito aos meus pais Mario Luiz Gardinal e Andrea Montanha Buzete Gardinal, minha irmã Aline Buzete Gardinal e demais familiares por toda a confiança e dedicação depositada em mim e por sempre acreditarem no meu potencial. Sem vocês eu nunca teria chegado até aqui e não teria me tornado o que sou hoje.

A minha incrível namorada Vanessa Garcia Vilas Boas que esteve ao meu lado em todos os momentos bons e ruins, não apenas durante o mestrado, mas em toda a minha trajetória acadêmica. Sou muito grato por tudo o que você proporcionou na minha vida.

Aos meus queridos amigos Thalles Fernando Rocha Ruiz e Mateus Rosseto Vidal por me ajudarem demais durante o mestrado e por “quebrar um galho para mim” mais vezes do que consigo me lembrar. Sem a ajuda de vocês este trabalho não teria saído.

A todos os meus amigos do LAMOA: Renata, Janaína, Maira, Diego, João, Gabriel e Nathália, por me proporcionarem a chance de ensinar, ouvir e aprender, além de ótimos momentos de descontração, afinal de contas, um mestrado não sai sem boas risadas e um bom café.

Ao Biólogo e amigo Antônio Carlos do Amaral, por todo o suporte e auxílio durante as atividades práticas no período de Iniciação Científica e Mestrado.

Aos meus queridos Tutores da Iniciação Científica: Claudemir, Renata e Ricardo por toda a paciência em ensinar e pelas grandes lições que formaram uma base sólida em minha vida acadêmica.

A todos os meus amigos de Lins, vocês são os melhores amigos que alguém poderia ter.

A todos vocês, meu eterno respeito e admiração.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu querido avô José Buzete, por ter sido um dos pilares importantes em minha vida. Sei que onde eu estiver o senhor sempre estará comigo. Obrigado por tudo. Descanse em Paz (☆ 1943 – † 2017).

APOIO FINANCEIRO

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão de Bolsa de Mestrado, junto ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da UNESP, Campus Jaboticabal (Processo nº 1577047).

SUMÁRIO

Lista de Figuras	8
Lista de Tabelas	10
Resumo	11
Abstract	12
1. Introdução Geral	14
1.1 Características da espécie em estudo: <i>Arapaima gigas</i>	14
1.2 Morfologia do coração de teleósteos	18
2. Justificativa	25
3. Objetivos	26
3.1 Objetivo Geral	26
3.2 Objetivos Específicos	26
4. Referências	27
Manuscrito	33
Resumo	35
Abstract	36
1. Introdução	37
2. Material e Métodos	38
2.1. Procedência dos Animais	38
2.2. Estudos Anatômicos	39
2.3. Estudos em Microscopia Eletrônica de Varredura.....	39
2.4. Estudos Histológicos.....	40
2.4.1. Histologia Geral	40
2.4.2. Secções Semifinas do Ventrículo.....	40
3. Resultados	41
Figuras	Erro! Indicador não definido.
4. Discussão	49
6. Agradecimentos	52
7. Referências	53

Lista de Figuras

Introdução Geral

Figura 1. Avaliação Sensorial de Exemplares de pirarucu. A: Recebimento e avaliação sensorial de exemplares de pirarucu provenientes de cultivo em Unidade Beneficiadora de Pescado em Santarém, PA. **B:** Exemplares de pirarucu provenientes de cultivo armazenados em gelo momentos antes do beneficiamento. Imagens cedidas pelo Engenheiro de Pesca Roger Franzoni Pozzer.....15

Figura 2. Classificação do ventrículo de peixes baseado em Tota (1989), adaptado de Grimes e Kirby (2009). In: Farrell et al. (2012). Tipo I: ventrículo apresentando apenas camada esponjosa: destaque para a artéria coronária superficial. Tipo II: ventrículo misto com camadas compacta e esponjosa, apresentando vascularização restrita a camada compacta. Tipos III e IV: ventrículos mistos com vasos coronários nas camadas compacta e esponjosa. O ventrículo do tipo IV apresenta mais de 30% de miocárdio compacto em relação ao ventrículo do tipo III.....23

Manuscrito

Figura.1. Características anatômicas do coração de *Arapaima gigas*. **A:** Grupo 1. Coração apresentando átrio, ventrículo sacular e bulbo arterioso piriforme. Note a presença de pigmentação na superfície do bulbo (cabeças de seta). **B e C:** Grupos 2 e 3 respectivamente. Coração apresentando átrio, ventrículo piramidal e bulbo arterioso arredondado. Note a presença de tecido adiposo sobre a superfície ventricular (setas pretas). **D:** Grupo 3. Coração exibindo seio venoso e átrio. **E e F:** Grupo 2. **E:** Secção transversal do átrio exibindo lúmen atrial e finas trabéculas musculares (setas brancas). **F:** Secção histológica apresentando subepicárdio atrial rico em colágeno (cabeças de seta pretas) e trabéculas atriais envolvidas por colágeno (setas pretas). **G:** Detalhe do segmento atrioventricular (asteriscos pretos) e cone arterioso (asteriscos brancos) com suas respectivas válvulas. **H:** Válvula atrioventricular (asterisco preto) conectada ao segmento atrioventricular (asterisco branco). Detalhe para o revestimento de tecido conjuntivo fibroso interno mais evidente (setas pretas) e externo (setas brancas) do segmento atrioventricular em continuidade com a válvula. Abreviações: **A:** átrio; **V:** ventrículo; **B:** bulbo arterioso; **S:** seio venoso; **lu:** lúmen; **av:** válvulas atrioventriculares; **vc:** válvulas do cone. Barras de escala: **A:** 0,1cm; **B:** 0,5cm; **C:** 1,0cm; **D:** 0,2cm; **E:** 0,2cm; **F:** 200µm; **G:** 0,1cm; **H:** 200µm.....44

Figura 2. Características anatômicas e ultraestruturais do ventrículo de *Arapaima gigas*. **A:** Grupo 2. Secção parassagital do ventrículo apresentando lúmen ventricular, válvulas do cone (setas brancas finas) e bulbo arterioso. **B:** Grupo 3. Detalhe da superfície interna do ventrículo com destaque para as lâminas trabeculares delimitando espaços intertrabeculares (lacunas) (asteriscos brancos). Note o formato de rede do miocárdio trabeculado (camada esponjosa). **C - E:** Grupo 2. Micrografia eletrônica de varredura do miocárdio trabeculado. **C:** Destaque para as lâminas trabeculares delimitando espaços intertrabeculares (asteriscos brancos). Note a extensão das lacunas em direção a periferia ventricular (setas pretas). **D:** Detalhe no interior de uma lacuna, evidenciando a abertura das microlacunas (cabeças de seta). **E:** Detalhamento do sistema de microlacunas (cabeças de seta) se originando a partir de uma lacuna (setas pretas) se ramificando entre as lâminas trabeculares. Abreviações: **V:** ventrículo; **lu:** lúmen ventricular; **B:** bulbo arterioso; **lt:** lâminas trabeculares. Barras de escala: **A:** 0,5cm; **B:** 0,2cm; **C:** 500µm; **D:** 100 µm; **E:** 200µm.....45

Figura 3. Características histológicas do coração de *Arapaima gigas*. **A e B:** Grupo 1. Secção transversal do ventrículo apresentando lâminas trabeculares delimitando lacunas (asterisco) revestidas internamente por endocárdio (cabeças de seta preta). Notar a organização em forma de rede do miocárdio trabeculado (camada esponjosa). **C:** Grupo 1. Secção histológica do bulbo arterioso exibindo artéria coronária superficial (setas). **D e E:** Grupo 1. Secção parassagital do ventrículo. **D:** Destaque para o lúmen ventricular central abrindo-se nas lacunas (asterisco), posicionadas entre as lâminas trabeculares. **E:** Detalhe para as microlacunas se ramificando a partir

da lacuna (cabeças de seta branca) para o interior da lamina trabecular. **F:** Grupo 1. Vasos coronários no subepicárdio ventricular (setas). **G - I:** Grupo 2. Secções parassagitais do ventrículo. **G:** Notar o espessamento das lâminas trabeculares em relação ao grupo 1 e lúmen ventricular central abrindo-se nas lacunas (asteriscos). **H:** Parede ventricular apresentando subepicárdio, camada compacta constituída por feixes longitudinais de fibras musculares e camada esponjosa exibindo microlacunas (cabeça de setas brancas). **I:** Destaque para o vaso coronário passando do subepicárdio para a camada compacta (setas). **J e K:** Grupo 3. Secções histológicas da camada compacta e esponjosa. **J:** Destaque para os vasos coronários na região subepicárdica penetrando a camada compacta (setas). Note que nesta região a camada compacta apresenta feixes com disposição circular. **K:** Camada esponjosa apresentando fibras musculares organizadas em lâminas trabeculares. Note que as fibras apresentam disposição longitudinal e circular. Colorações: **A e B:** tricrômico de Masson; **C-K:** azul de toluidina. Abreviações: **lt:** lâminas trabeculares; **tl:** trabéculas longitudinais, **tc:** trabéculas circulares, **lu:** lúmen ventricular; **se:** subepicárdio; **cc:** camada compacta; **ce:** camada esponjosa. Barras de escala: **A:** 100 µm; **B:** 20 µm; **C:** 30 µm; **D:** 500µm; **E:** 20µm; **F:** 20µm; **G:**2mm; **H:** 20µm; **I:** 20µm; **J:** 20µm; **K:** 20µm
46

Figura 4. Características histológicas do miocárdio trabeculado em *Arapaima gigas*. **A e B:** Grupo 3. Secções transversais do miocárdio trabeculado. **A:** Lâminas trabeculares delimitando lacunas (asteriscos). **B:** Destaque para as lâminas trabeculares posicionadas entre duas lacunas (asterisco), revestidas por endocárdio (setas) **C e D:** Grupo 2. Secções parassagitais do miocárdio trabeculado. **C:** Detalhe para as microlacunas (cabeças de seta) se estendendo a partir das lacunas (asteriscos). Note uma camada de endocárdio espessa revestindo o lúmen ventricular (setas). **D:** Presença de fibras colágenas no endocárdio ventricular (setas). Colorações: **A – C:** Azul de toluidina. **D:** Picrosirius. Abreviações: **lt:** lâminas trabeculares, **lu:** lúmen. Barras de escala: **A:** 500µm; **B:** 100µm; **C:** 200µm; **D:** 100µm
47

Figura 5. Características anatômicas do bulbo arterioso e distribuição de artérias coronárias em *Arapaima gigas*. **A:** Grupo 1. Bulbo arterioso piriforme apresentando pigmentação (cabeças de seta pretas). **B:** Grupo 2. Bulbo arterioso arredondado exibindo artéria coronária superficial (setas pretas) apresentando bifurcação (asterisco). **C:** Grupo 3. Bulbo arterioso apresentando diversas ramificações da artéria coronária (setas pretas). **D:** Grupo 3. Interior do bulbo arterioso exibindo colunas longitudinais (cabeças de seta branca). Note que as bases das válvulas do cone estão anexadas ao cone arterioso (asteriscos brancos) e as extremidades distais (setas brancas) estão anexadas a uma coluna principal (asterisco preto). **E:** Válvulas do cone (asterisco preto) conectadas ao cone arterioso (asterisco branco). Notar o revestimento de tecido conjuntivo fibroso interno (setas pretas) e externo (setas brancas) do cone arterioso em continuidade com as válvulas. Notar a presença de vasos sanguíneos (cabeças de seta) Abreviações: **B:** bulbo arterioso; **V:** ventrículo; **vc:** válvulas do cone. Barras de escala: **A:** 0,05cm; **B:** 0,2cm; **C:** 0,2cm; **D:** 0,2cm; **E:** 200µm.
48

Lista de Tabelas

Manuscrito

Tabela 1. Exemplares de *A. gigas* agrupados de acordo o peso e dependência da respiração aérea segundo Brauner et al. (2004) e Ramos et al. (2013)
.....39

Resumo

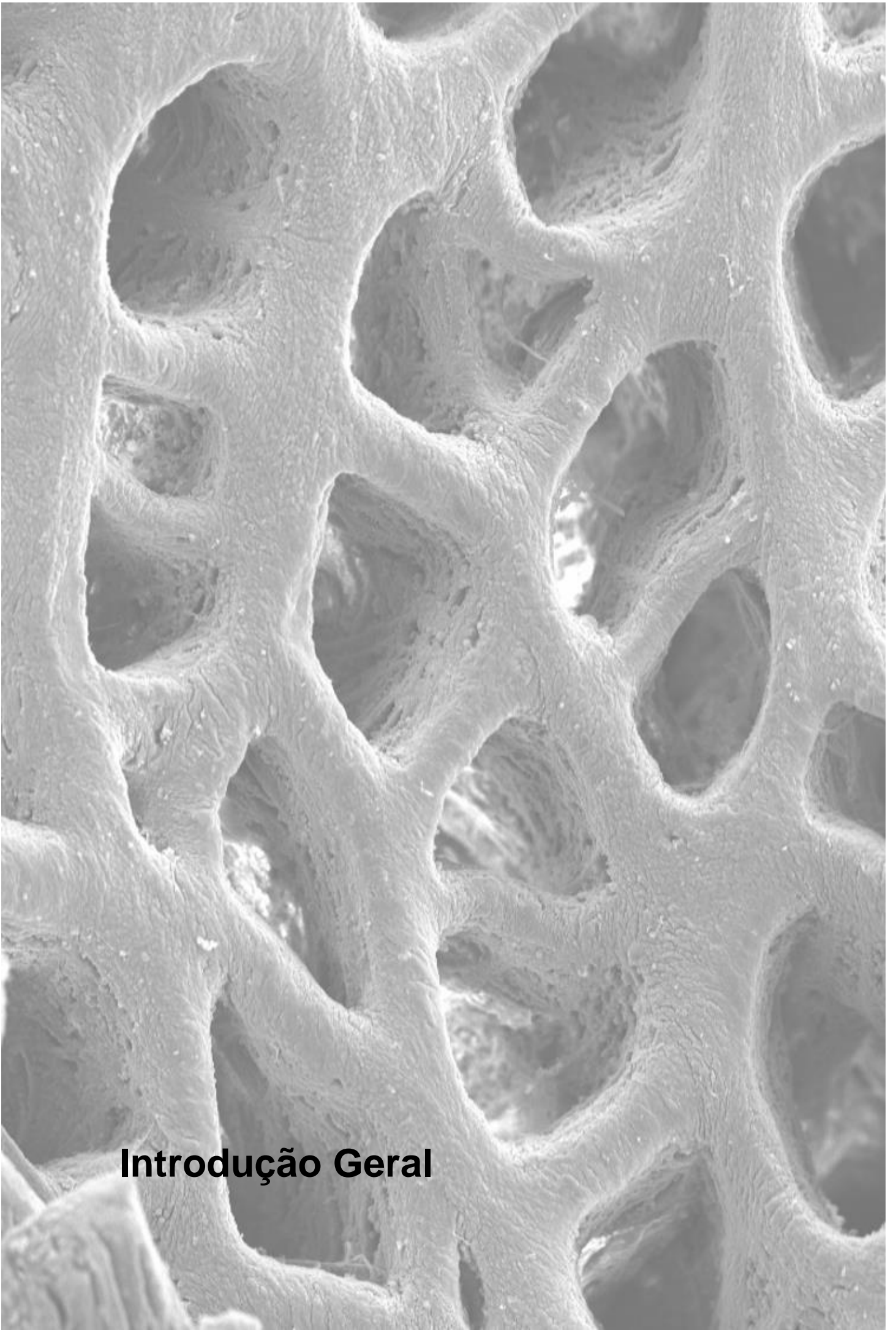
O *Arapaima gigas* é uma espécie nativa da bacia amazônica que apresenta transição no modo de respiração. Em estágios iniciais do desenvolvimento, esta espécie possui respiração exclusivamente aquática, alterando para respiração aérea com aproximadamente 9 dias após eclosão dos ovos. Essa transição está associada a modificações morfológicas nas brânquias que se tornam cada vez menos eficientes para realizar trocas gasosas, tornando esta espécie progressivamente mais dependente do oxigênio atmosférico. Entretanto, não se sabe se esta característica pode afetar a morfologia cardíaca. Em relação ao coração de teleósteos, o ventrículo é uma câmara que exhibe grande variabilidade morfológica entre as espécies e pode apresentar características específicas em espécies adaptadas a condições ambientais extremas. Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi descrever a morfologia cardíaca em *A. gigas* com ênfase na mioarquitetura ventricular e a distribuição de vasos coronários durante etapas de seu desenvolvimento relacionadas a dependência da respiração aérea. Assim, foram utilizados espécimes distribuídos em três grupos de acordo com o peso dos animais e dependência da respiração aérea (grupo 1 – baixa dependência; grupo 2 – transição; grupo 3 – alta dependência). Os corações foram coletados e submetidos a análise anatômica, ultraestrutural e histológica. O ventrículo de *A. gigas* apresentou alterações anatômicas entre os grupos, exibindo inicialmente aspecto sacular com miocárdio inteiramente trabeculado (grupo 1) e posteriormente um formato piramidal definitivo com miocárdio misto (grupos 2 e 3). O miocárdio trabeculado apresentou uma organização distinta em forma de rede em todos os grupos, diferente do descrito em literatura para outros teleósteos. O bulbo arterioso exibiu pigmentação somente em exemplares do grupo 1, além de características anatômicas observadas apenas em membros da família Osteoglossidae até o momento. Estas características morfológicas se relacionam a aspectos fisiológicos descritos previamente no coração desta espécie e ainda, representam adaptações ao desenvolvimento de *A. gigas* em um ambiente hipóxico.

Palavras Chaves: *Osteoglossiformes, respiração aérea, miocárdio, vascularização.*

Abstract

The *Arapaima gigas* is a native species of the Amazon basin that presents a transition in the breathing mode. In early stages of development, this species has exclusively water breathing, changing to air breathing with approximately 9 days after egg hatching. This transition is associated with morphological changes in the gills that become less and less efficient to perform gas exchange, making this species progressively more dependent on atmospheric oxygen. However, it is not known whether this feature can affect cardiac morphology. In relation to the teleosts heart, the ventricle is a chamber that exhibits great morphological variability among the species and may present specific characteristics in species adapted to extreme environmental conditions. Thus, the objective of the present study was to describe the cardiac morphology in *A. gigas* with emphasis on ventricular myoarchitecture and distribution of coronary vessels in stages of its development related to the dependence of air breathing. To perform the study, were used *A. gigas* specimens distributed in three groups according to the weight of the animals and dependence on air breathing (group 1 - low dependence; group 2 - transition; group 3 - high dependence). The hearts were collected and submitted to anatomical, ultrastructural and histological analyzes. The *A. gigas* ventricle presented anatomical changes among the groups, initially showing a saccular shape with fully trabeculated myocardium (group 1) and later a definitive pyramidal shape with mixed myocardium (groups 2 and 3). The trabeculated myocardium presented a distinct net-like organization in all groups, different from that described in literature for other teleosts. The bulbus arteriosus exhibited pigmentation only in specimens of group 1, in addition to anatomical features observed only in members of the Osteoglossidae family to date. These morphological characteristics are related to physiological aspects previously described in the heart of this species and represent adaptations to the development of *A. gigas* in a hypoxic environment.

Keywords: *Osteoglossiform, air breathing, myocardium, vascularization.*



Introdução Geral

1. Introdução Geral

1.1 Características da espécie em estudo: *Arapaima gigas*

A ordem Osteoglossiformes está situada na base da evolução dos teleósteos atuais e compreende 4 famílias, 28 gêneros e 218 espécies, todas localizadas em água doce (NELSON, 2006). As espécies desta ordem compartilham alterações na morfologia do crânio, como ligamentos não totalmente ossificados, além de apresentarem um sistema esquelético e muscular complexos (BETANCUR-R et al., 2017). Anteriormente, este grupo era classificado como o clado mais basal dos teleósteos, porém após estudos de morfologia e filogenia comparada, foi proposto uma posição mais derivada (DIOGO et al., 2008; BETANCUR-R et al., 2017).

O *Arapaima gigas* (Schinz, 1822), popularmente conhecido como pirarucu (Fig. 1A, B), é uma espécie endêmica da bacia amazônica classificada anteriormente na família Osteoglossidae juntamente com *Osteoglossum bicirrhosum* e *Osteoglossum ferreirai*, porém destaca-se entre estas espécies por apresentar respiração aérea obrigatória (VAL; ALMEIDA VAL, 1995). Atualmente é classificado na família Arapaimidae, composta por apenas duas espécies: o *Arapaima gigas* e o peixe de língua óssea africano *Heterotis niloticus* (LAUDER; LIEM, 1983). Seu nome é de origem tupi (*pira* = peixe, *urucu* = vermelho), devido a intensa coloração avermelhada na região posterior das escamas em algumas regiões do corpo, cuja intensidade pode variar de acordo com o sexo e período de reprodução (VENTURIERI; BERNARDINHO, 1999). Pode atingir tamanho superior a 3 m de comprimento e pesar mais de 200kg, sendo considerado atualmente o maior peixe de água doce. Possui o corpo alongado, com grandes escamas recobrendo toda sua extensão, com exceção da cabeça. Apresenta nadadeiras peitorais pequenas próximas a cabeça e nadadeiras dorsal e anal próximas a nadadeira caudal. Possui coloração verde-acinzentada, iridescência dourada e manchas alaranjadas pelo corpo (FAO, 2012).

Esta espécie nativa apresenta potencial para piscicultura intensiva na Amazônia, podendo atingir de 7 a 10kg no primeiro ano de cultivo (PEREIRA-FILHO et al., 2003; LIMA et al., 2017). Ainda, além das rápidas taxas de crescimento esta espécie também apresenta rusticidade em ambientes tropicais (IMBIRIBA, 2001) e carne desprovida de espinhas com coloração clara e sabor suave, contribuindo

para o seu valor de mercado (REBELATO JUNIOR et al., 2015). Por ser uma espécie com respiração aérea é possível sua criação de forma intensiva ou semi-intensiva, devido a capacidade de tolerar ambientes com pouco oxigênio dissolvido e altas concentrações de amônia (CAVERO et al., 2004; LIMA et al., 2017). Sua criação ocorre principalmente na Amazônia, porém também pode ser criada nas regiões Nordeste, Centro-Oeste e determinadas regiões do Sudeste, onde não ocorra variações bruscas de temperatura (IMBIRIBA, 2001). Entretanto, este processo é uma atividade recente no Peru e no Brasil e depende unicamente de sua reprodução espontânea em cativeiro, pois a espécie encontra-se no apêndice II do CITES (Convenção sobre Comércio Internacional de Espécies Selvagens Ameaçadas de Fauna e Flora), que delimita o comércio em espécies na qual a extração pode colocar em risco sua sobrevivência (CITES, 2017). Assim, a principal dificuldade são as peculiaridades em seu comportamento reprodutivo associado a baixa fecundidade das fêmeas que podem tornar a produção em larga escala uma tarefa difícil e dispendiosa (FAO, 2012).



Fig 1. Avaliação Sensorial de Exemplares de pirarucu. **A:** Recebimento e avaliação sensorial de exemplares de pirarucu provenientes de cultivo em Unidade Beneficiadora de Pescado em Santarém, PA. **B:** Exemplares de pirarucu provenientes de cultivo armazenados em gelo momentos antes do beneficiamento. Imagens cedidas pelo Engenheiro de Pesca Roger Franzoni Pozzer.

Segundo Imbiriba (2001), a pesca predatória do pirarucu foi um fator que colocou em risco a sobrevivência da espécie. O alto valor comercial incentivou a captura de exemplares jovens, prejudicando os estoques naturais. Devido a esta situação, foi criado em 1999 o Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá (IDSMS) com o objetivo de conciliar a conservação da biodiversidade com o desenvolvimento sustentável (IDSMS, 2012). Segundo Amaral (2009), o sistema de

manejo comunitário é baseado na organização dos pescadores em associações, estabelecimento de regras a respeito da legislação vigente, fiscalização das áreas protegidas, monitoramento dos estoques de pirarucu e estabelecimento de cotas conservativas de pesca e venda da produção.

Classificado como sedentário, o pirarucu não realiza migrações a longa distância (ISAAC et al., 1993; CASTELLO, 2008). Entretanto, é capaz de realizar migrações laterais que acompanham as flutuações no nível d'água. Este dado é reforçado por estudos envolvendo a capacidade de dispersão e a estrutura genética da espécie (ARARIPE et al., 2013). Quando o nível d'água aumenta, os animais se deslocam para regiões mais altas nas florestas alagadas e posteriormente retornam para os rios quando o nível diminui. Mesmo durante o período de seca, o nível d'água varia, fazendo com que o pirarucu migre por entre os diferentes lagos, dependendo da altura que a água alcançar (CASTELLO, 2008). A capacidade desta espécie em habitar florestas alagadas durante o período de cheia está relacionada ao sistema de respiração aérea, que possibilita sua permanência em ambientes hipóxicos e ao seu corpo alongado, que o permite nadar em locais de baixa profundidade. Este processo de migração logo após a enchente é altamente vantajoso, pois garante benefícios quanto a alimentação e o cuidado parental (CASTELLO, 2008).

Assim como os outros representantes da ordem Osteoglossiformes, esta espécie é conhecida pela presença de uma placa óssea lingual preenchida por numerosos dentes linguais. Esta característica é relacionada com a captura e movimentação da presa em direção ao esôfago (KERSHAW, 1976). De acordo com Meunier et al. (2013), a atividade predatória ocorre cedo no desenvolvimento, uma vez que esta placa óssea foi observada no período pós-embrionário em espécimes de 16 a 17 mm. Ao estudar o conteúdo estomacal de juvenis, Oliveira et al. (2005) observaram uma preferência alimentar por insetos, microcrustáceos e gastrópodes. Já Queiroz (2000), evidenciou em indivíduos de 1,0 a 1,5 m uma dieta carnívora, baseada principalmente em peixes, classificando-o como carnívoro especialista. Entretanto, estudos realizados em pirarucus na região das Guianas o classificaram como onívoros e consumidores secundários, devido a dados de isótopos estáveis e características morfológicas do intestino (WATSON et al., 2013).

O pirarucu apresenta respiração aquática até aproximadamente o 9º dia após a eclosão dos ovos. Após este período, esta espécie passa por uma transição no modo de respiração ao longo do desenvolvimento, alternando de respiração aquática para exclusivamente aérea (GRAHAM, 1997). De acordo com observações realizadas por Brauner et al. (2004) esta alteração está relacionada a mudanças na morfologia branquial, na qual os espaços interlamelares tendem a tornar-se menos evidentes devido a proliferação celular (principalmente células ricas em mitocôndrias). Ainda, segundo o autor, em animais de 10g a estrutura das lamelas é semelhante ao observado em espécies de respiração aquática. Conforme o animal atinge rapidamente 100g, as lamelas começam a tornar-se menos visíveis, e com 1kg os filamentos já apresentam formato colunar com lamelas não mais evidentes.

Em estágios iniciais do desenvolvimento a eficiência na troca gasosa apresenta grande influência na estrutura das brânquias. Porém ao atingir 1kg, a estrutura branquial torna-se mais eficiente na regulação iônica e balanço ácido-base (BRAUNER et al., 2004; RAMOS et al., 2013). Em espécimes de 1 a 2kg, as brânquias são responsáveis por apenas 5 a 25% do oxigênio total absorvido e ainda apresentam massa reduzida em comparação a *Osteoglossum bicirrhosum*, um osteoglossídeo que apresenta respiração exclusivamente aquática (HULBERT et al., 1978; BRAUNER; VAL, 1996).

Em geral, espécies que apresentam respiração aérea necessitam de um órgão acessório (brânquias, bolsas orais e faríngeas, pele, bexiga natatória, pulmão, estômago e intestino). Estes órgãos possuem paredes finas, são altamente vascularizados e apresentam ampla superfície para facilitar a difusão de gases (FERNANDES-CASTILHO et al., 2007). Entretanto, o desenvolvimento de um órgão de respiração aérea foi somente o primeiro passo evolutivo em direção a uma respiração efetiva, de modo que alterações na circulação dos peixes também tiveram que ocorrer para providenciar o transporte de sangue oxigenado para os tecidos (JOHANSEN, 1968; FERNANDES-CASTILHO et al., 2007).

Para realizar a respiração aérea, o pirarucu faz uso de uma bexiga natatória altamente vascularizada (VAL; ALMEIDA-VAL, 1995) localizada próximo aos rins (GRAHAM, 1997). Segundo Farrell (1978), esta câmara é ventilada apenas uma

vez a cada 4 a 5 minutos. Diferente de outras espécies que apresentam este modo de respiração, o pirarucu não apresenta alterações na frequência cardíaca e na pressão sanguínea da aorta dorsal durante a respiração. O suprimento sanguíneo aferente da bexiga ocorre principalmente por meio do sistema porta-renal (GREENWOOD; LIEM, 1984). Uma vez oxigenado, o sangue deixa a bexiga pela veia cardinal posterior esquerda que desemboca no ducto de Cuvier. Este ducto abre-se no seio venoso do coração juntamente com a veia hepática, que carrega o sangue desoxigenado proveniente dos tecidos. Nesta região, ocorre uma mistura entre o sangue oxigenado e desoxigenado (GREENWOOD; LIEM, 1984; GRAHAM, 1997). Segundo Fernandes-Castilho (2007), esta mistura pode levar a um aumento na pressão do oxigênio no sangue e trazer vantagens em suprir a musculatura cardíaca, uma vez que esta espécie frequentemente enfrenta condições de hipóxia.

Quanto a fisiologia cardíaca, estudos realizados por Hochachka et al. (1978) demonstraram que o coração de *A. gigas* apresenta grande quantidade de lipídios no epicárdio, assim como triglicerídeos intercelulares armazenados no miocárdio. Por sua vez, o miocárdio é formado por apenas um tipo celular e apresenta numerosas mitocôndrias diferenciadas em periféricas e miofibrilares, que segundo o autor, são especializadas no metabolismo oxidativo e na troca de materiais com o sangue. Deste modo, os lipídios presentes no coração seriam utilizados como fonte principal de energia. Ainda, a glicólise anaeróbica no miocárdio seria menor em *A. gigas* em relação a *Osteoglossum bicirrhosum*, devido à baixa atividade enzimática de PFK (fosfofrutoquinase), PK (piruvato quinase), e LDH (lactato desidrogenase) (HOCHACHKA et al., 1978; GRAHAM, 1997).

1.2 Morfologia do coração de teleósteos

O coração de teleósteos é classicamente descrito apresentando quatro câmaras: seio venoso, átrio, ventrículo e bulbo arterioso. Porém, segundo uma revisão realizada por Icardo (2017), dois segmentos presentes no coração devem ser incluídos para definir adequadamente a morfologia cardíaca: o segmento atrioventricular e o cone arterioso. Assim, segundo o autor pode ser estabelecido que o coração de teleósteos apresenta seis componentes dispostos em série dentro de um saco pericárdico: seio venoso, átrio, segmento atrioventricular, ventrículo, cone arterioso e bulbo arterioso.

O fluxo sanguíneo no coração tem início no seio venoso que funciona como um reservatório elástico de paredes finas constituído principalmente por tecido conjuntivo. Entretanto, também pode apresentar musculatura cardíaca e/ou musculatura lisa, com quantidade variável entre as espécies (YAMAUCHI, 1980; FARRELL; JONES, 1992). Seu volume é altamente variável, podendo ser igual ou inferior ao volume atrial (FARRELL; SMITH, 2017). Do ponto de vista funcional, esta câmara é responsável por coletar o sangue rico em CO₂ por meio do ducto de Cuvier e das veias hepáticas, e enviá-lo para o átrio (YAMAUCHI, 1980). Porém, sua contribuição nesta tarefa não é constante, uma vez que a musculatura cardíaca é esparsa em muitas espécies e também devido à ausência de válvulas do seio para prevenir o refluxo (SANTER, 1985; FARRELL; JONES, 1992, ICARDO, 2017).

Outra função importante associada ao seio venoso é o controle dos batimentos do coração, uma vez que nele localiza-se o tecido do marca-passo cardíaco (FARRELL; JONES, 1992). Os feixes de nervos e corpos neuronais estão presentes na parede do seio e formam uma estrutura semelhante a um plexo, que diferem dos gânglios observados em aves e mamíferos por não estarem envolvidos por tecido conjuntivo e apresentarem pouca organização (SANTER, 1985; ICARDO, 2017). Em relação ao suprimento de oxigênio, segundo Farrell et al. (2012), esta câmara não apresenta vasos coronários, sendo inteiramente suprido pelo sangue presente no lúmen.

Em continuidade com o seio venoso, o átrio é uma câmara localizada em posição dorsal em relação ao ventrículo, sendo caracterizado como uma câmara única e irregular de volume igual ou inferior ao volume ventricular. Sua forma variável é derivada da distância entre o óstio atrioventricular, bulboventricular e da curvatura em S, presente na anatomia cardíaca dos peixes (SANTER, 1985). Esta câmara apresenta maior quantidade de musculatura cardíaca em relação ao seio venoso, mas devido à baixa pressão sanguínea que é capaz de gerar, exige uma demanda de oxigênio relativamente baixa (FARRELL et al., 2012).

A parede atrial é constituída por trabéculas musculares denominadas de músculos pectíneos, que aparentam irradiar-se ou convergir no orifício atrioventricular. Estas trabéculas são compostas por músculo cardíaco envolto por endocárdio, com colágeno evidente na região subendocárdica e pouco colágeno

entre as fibras musculares (ICARDO, 2017). Funcionalmente, o átrio é responsável por enviar o sangue para o ventrículo. Quando ocorre a contração da musculatura, as válvulas sinoatriais previnem o refluxo sanguíneo, aumentando a pressão no sangue e auxiliando sua passagem (OLSON, 2000; FARRELL; SMITH, 2017).

Entre o átrio e o ventrículo, o segmento atrioventricular é descrito como uma estrutura em formato de anel constituído por musculatura cardíaca vascularizada, envolvida por tecido conjuntivo rico em colágeno. Tanto a musculatura quanto o tecido conjuntivo são mais evidentes em espécies ativas em relação a espécies sedentárias (ICARDO; COLVEE, 2011; ICARDO, 2017). Ainda, o tecido conjuntivo é responsável por isolar parcialmente a musculatura do segmento atrioventricular em relação àquele presente no átrio e no ventrículo. Este segmento apresenta miocárdio compacto, quase sempre vascularizado independente do miocárdio ventricular. Sua função é desempenhar conexões funcionais e estruturais entre ambas as câmaras (ICARDO; COLVEE, 2011; ICARDO, 2017).

Segundo Rantin e Kalinin (2014) o ventrículo de teleósteos é a principal câmara geradora de pressão no coração e compreende entre 58% a 85% de seu peso. Esta câmara apresenta consideráveis variações morfológicas entre as espécies, e devido a esta característica, torna-se difícil agrupá-lo em categorias (TOTA et al., 1983; TOTA, 1989; SANTER et al., 1983; SANTER, 1985; FARRELL; JONES, 1992; ICARDO et al., 2005; ICARDO, 2012; ICARDO, 2017). Entretanto, segundo Icardo (2012), a classificação baseada na anatomia externa (SANTER, 1985) e análise de organização do miocárdio ventricular, associada com a presença ou ausência de vascularização coronariana (TOTA et al., 1983; TOTA, 1989) se mostraram eficientes.

Em relação a classificação anatômica, o ventrículo pode apresentar até três tipos: sacular, tubular e piramidal. Essa classificação possui diversas implicações funcionais. Assim, ventrículos piramidais geralmente apresentam uma parede robusta e estão relacionados a um estilo de vida ativo (SANTER et al., 1983). Entretanto, em outros casos a presença de um ventrículo piramidal não se relaciona com estas características, como observado em teleósteos antárticos e em membros da família Serranidae e Sparidae (ICARDO, 2012). Quanto aos outros tipos, ventrículos com formato sacular são observados em muitos teleósteos marinhos e

são associados a espécies com locomoção restrita. Por sua vez, ventrículos tubulares são frequentemente observados em peixes que apresentam um formato de corpo alongado (SÁNCHEZ-QUINTANA et al., 1996). Entretanto, é importante destacar que o significado destas formas ainda não é claro (ICARDO, 2017)

Além das características externas, o miocárdio ventricular pode ser classificado em dois tipos: inteiramente trabeculado (i.e., miocárdio trabeculado ou camada esponjosa) ou miocárdio misto, constituído por uma camada compacta externa (i.e., miocárdio compacto) que envolve a camada esponjosa interna (SATCHELL, 1970). Segundo Sánchez-Quintana et al. (1996), ventrículos tubulares ou saculares estariam associados a um miocárdio inteiramente trabeculado, enquanto ventrículos piramidais estariam associados a um miocárdio misto. Entretanto, segundo demonstrado por Simões et al. (2002) e Icardo et al. (2005), a relação entre o formato ventricular externo e a arquitetura interna do miocárdio não é sempre constante, assim como a relação entre o formato externo e o hábito natatório das espécies (ICARDO, 2012; ICARDO, 2017).

O miocárdio trabeculado é constituído por cardiomiócitos organizados em um complexo arranjo de lâminas trabeculares enquanto que o miocárdio misto, além da porção trabeculada, apresenta uma camada compacta vascularizada externa (ICARDO, 2017). O desenvolvimento da camada compacta é caracterizado pela organização progressiva das fibras cardíacas em camadas de feixes musculares e pode apresentar até três arranjos diferentes, dependendo de sua extensão (SÁNCHEZ-QUINTANA; HURLE, 1987; FARRELL; JONES, 1992). Esta organização é mais evidente em espécies ativas, como peixes-espadas e atuns (SÁNCHEZ-QUINTANA; HURLE, 1987). Entretanto, sua espessura relativa e arquitetura são amplamente variáveis entre as espécies (FARRELL; JONES, 1992). Em relação ao miocárdio trabeculado, as trabéculas musculares em formato de lâminas delimitam pequenos espaços intertrabeculares (i.e., lacunas) que se irradiam a partir do lúmen central (ICARDO et al., 2005; MUNSHI et al., 2001). O lúmen central do ventrículo seria responsável por suportar a maior parte do stress sistólico que seria progressivamente reduzido em direção a periferia. Esta característica, segundo Icardo et al. (2005), protege o miocárdio e mantém a integridade da parede ventricular.

Entre a camada compacta e esponjosa, segundo Icardo (2012), destaca-se a presença de colágeno em quantidades variáveis. De acordo com Tota (1978), o colágeno funcionaria como uma cola, permitindo que o miocárdio atue como unidade funcional. No entanto, ao analisar ventrículos de salmonídeos, Pieperhoff et al. (2009) demonstraram que o colágeno desta região é descontínuo e pouco evidente. Assim, o autor sugeriu que as fibras musculares da camada esponjosa dobram suas pontas para criar uma superfície de contato paralela com a camada compacta. Esta junção é enriquecida por desmossomos e componentes de fáschia. Segundo Icardo (2012), ao invés de rejeitar a hipótese descrita por Tota (1978) ou o modelo descrito por Pieperhoff et al. (2009), é sugerido que a combinação de ambos estabeleça a sinergia necessária para manter as diferentes organizações musculares unidas, promovendo a contração simultânea do ventrículo.

Outra classificação cardíaca adotada (Fig. 2), leva em consideração a presença e a espessura da camada compacta, bem como a extensão da vascularização no miocárdio ventricular (TOTA et al., 1983; TOTA, 1989). Assim, ventrículos do tipo I apresentam apenas miocárdio esponjoso, com a ausência de camada compacta. Nesta categoria pode ocorrer a presença de artérias coronárias superficiais na região do epicárdio (subtipo Ia) ou estas podem estar ausentes (subtipo Ib). Já as categorias II, III e IV possuem miocárdio compacto e esponjoso com a presença de vasos coronários miocárdicos. Os ventrículos do tipo II apresentam vasos na camada compacta, mas estes não penetram a camada esponjosa. Por fim, os ventrículos do tipo III e IV diferem na proporção da massa ventricular formada pela camada compacta, mas os vasos coronários penetram tanto na camada compacta quanto na camada esponjosa.

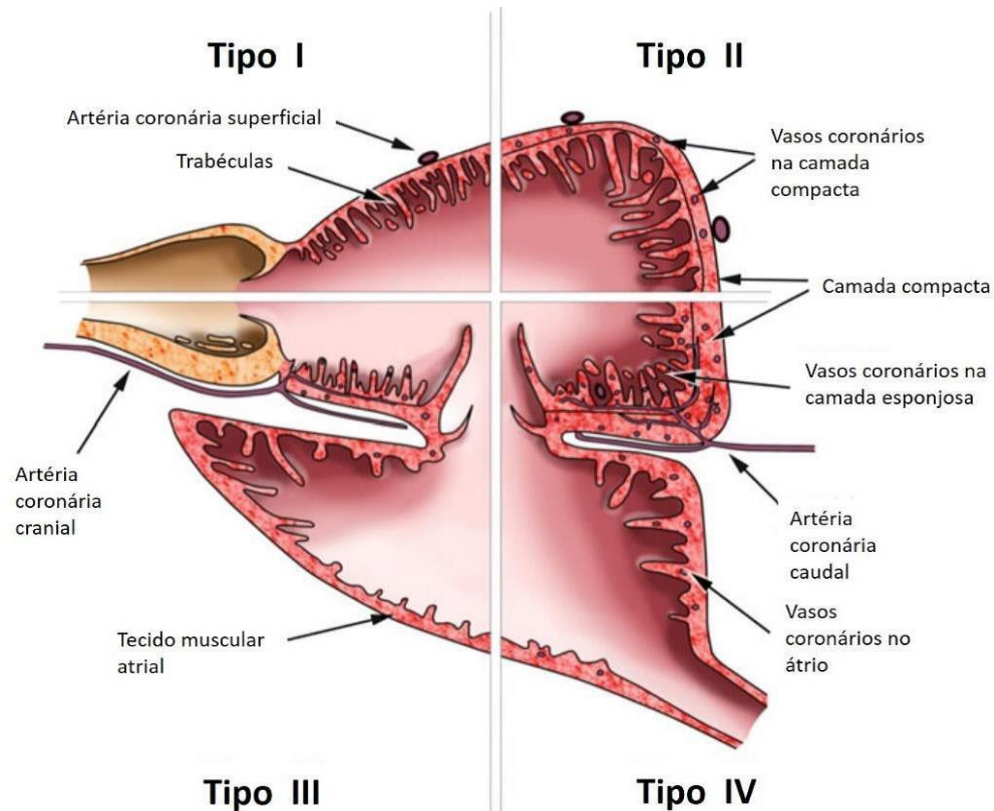


Fig.2: Classificação do ventrículo de peixes baseado em Tota (1989), adaptado de Grimes e Kirby (2009). In: Farrell et al. (2012). Tipo I: ventrículo apresentando apenas camada esponjosa: destaque para a artéria coronária superficial. Tipo II: ventrículo misto com camadas compacta e esponjosa, apresentando vascularização restrita a camada compacta. Tipos III e IV: ventrículos mistos com vasos coronários nas camadas compacta e esponjosa. O ventrículo do tipo IV apresenta mais de 30% de miocárdio compacto em relação ao ventrículo do tipo III.

Em teleósteos, o suprimento de oxigênio no miocárdio ventricular ocorre por meio do sangue em contato com as trabéculas musculares no lúmen cardíaco ou por intermédio de vascularização coronariana (DAVIE; FARRELL, 1991). Ambas as vias de suprimento estão relacionadas ao tipo de mioarquitetura, de modo que a vascularização coronariana é geralmente observada na camada compacta, enquanto a via luminal está associada a camada esponjosa (DAVIE; FARRELL, 1991; COX et al., 2016). Entretanto, estudos realizados por Tota et al. (1983) demonstraram para espécies ativas como *Thunnus thynnus* e *Xiphias gladius*, a presença de vasos coronários tanto na camada compacta quanto nas trabéculas musculares da camada esponjosa. Cabe destacar, que a classificação proposta por Tota (1989) evidenciando 4 tipos de ventrículo tem sido adotada tanto para teleósteos quanto para elasmobrânquios (SANTER, 1985; DAVIE; FARRELL,

1991; FARRELL; JONES 1992; GRIMES; KIRBY, 2009; ICARDO, 2012; FARRELL et al., 2012; DURÁN et al., 2015; ICARDO, 2017; FARRELL; SMITH, 2017).

A circulação coronariana em peixes tem origem a partir das artérias hipobranquiais, formadas por junções das artérias branquiais eferentes. A partir destas artérias, originam-se os ramos coronários direito e esquerdo que podem se fundir e alcançar o coração pela região cranial. Além desta via, em algumas espécies pode ocorrer a presença de artérias coronárias caudais que se originam a partir da artéria coracóide (primeiro ramo da artéria aorta dorsal) e chegam ao coração pela superfície dorsal, por meio de ligamentos pericárdicos (FARRELL; JONES, 1992; ICARDO, 2017). Segundo Tota et al. (1983), as artérias coronárias que chegam ao coração pelo bulbo arterioso (em teleósteos) ou cone arterioso (em elasmobrânquios), podem ramificar-se no ventrículo formando duas redes distintas: hilar ou extrahilar. A rede hilar é formada quando a artéria coronária percorre a superfície do bulbo e posteriormente penetra a parede do ventrículo diretamente na região bulboventricular. Por outro lado, a rede extrahilar é constituída por vasos que partem das artérias coronárias principais e ramificam-se na superfície ventricular abaixo do epicárdio, formando o sistema extramural.

Outra estrutura considerada no coração de peixes é o cone arterioso. Em princípio este foi localizado em teleósteos basais e elasmobrânquios, sendo considerado ausente em teleósteos mais derivados. A perda do cone pôde ser atribuída a dois fatores: uma invaginação do ventrículo (SMITH, 1918) ou a uma consequência direta da evolução cardíaca (SANTER, 1985). Entretanto, em estudos realizados por Icardo (2006) em 28 espécies de diferentes famílias e ordens, demonstrou que o cone arterioso também está presente no coração de teleósteos derivados. O cone é representado por um segmento anatômico localizado entre o ventrículo e o bulbo arterioso, formado por miocárdio compacto com mais colágeno, elastina e laminina, em relação ao encontrado na musculatura ventricular (ICARDO, 2006; SCHIB et al., 2002). Este segmento é mais facilmente reconhecido em ventrículos inteiramente esponjosos em relação a ventrículos que apresentem uma camada compacta (ICARDO, 2017). O cone pode apresentar vasos sanguíneos mesmo quando o miocárdio ventricular não é vascularizado. Como observado em outros corações, o cone suporta as válvulas de saída, que segundo Schib et al. (2002), deveriam ser nomeadas de “válvulas do cone”.

Finalmente, o bulbo arterioso é descrito como uma câmara única de parede espessa localizado entre o ventrículo e a aorta ventral (FARRELL; JONES, 1992). Segundo Icardo (2017), esta estrutura é dominante no trato de saída de teleósteos mais derivados e apresenta-se constituído principalmente por tecido conjuntivo e musculatura lisa. Esta câmara apresenta capacidade de expansão, funcionando como um reservatório elástico para o sangue durante a sístole ventricular, absorvendo a pressão gerada pelo ventrículo para prevenir danos à delicada vascularização branquial (FARRELL, 1979). Seu formato externo pode variar de piriforme e alongado a espesso e robusto. A superfície interna é caracterizada pela presença de cristas longitudinais que ocupam toda sua extensão, uma vez que, dependendo da espécie, elas podem ser proeminentes ou discretas, acompanhando o formato do bulbo (FARRELL; JONES, 1992).

Diante do exposto, apesar dos inúmeros estudos realizados no coração de peixes, são poucos os relatos baseados em espécies Neotropicais de água doce. (HOCHACHKA et al., 1978; CAMILLI et al., 1989; GONÇALVES et al., 1990; SIMÕES et al., 2002). Cabe destacar, que a região Neotropical apresenta a maior diversidade taxonômica e estrutural em peixes de água doce quando comparada a outras regiões biogeográficas (TOUSSAINT et al., 2016). Assim, estudos da morfologia cardíaca tornam-se necessários para melhor compreensão das características morfofuncionais nestas espécies.

2. Justificativa

Conforme descrito anteriormente, o *Arapaima gigas* apresenta modificações no modo de respiração ao longo do desenvolvimento, passando de respiração exclusivamente aquática para aérea (GRAHAM, 1997; BRAUNER et al., 2004). Entretanto, não se sabe como estas modificações podem atuar sobre a morfologia cardíaca desta espécie, ou ainda, se o coração apresenta características morfofuncionais específicas como forma de adaptação ao ambiente. Ainda, alguns autores destacaram em literatura características únicas sobre a fisiologia cardíaca nesta espécie, tais como a oxidação de ácidos graxos sendo utilizada como a fonte principal de energia para o miocárdio e ausência de taquicardia durante os ciclos de respiração aérea (HOCHACHKA et al., 1978; FARRELL, 1978). Diante do exposto e levando em consideração a variabilidade morfológica no ventrículo de

teleósteos (ICARDO, 2017), esta espécie torna-se um modelo interessante para estudos voltados a morfologia cardíaca, principalmente no que se refere a organização da mioarquitetura ventricular associada a distribuição de vasos coronários.

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Descrever morfologia do coração de *Arapaima gigas* com ênfase na mioarquitetura ventricular e distribuição de vasos coronários em diferentes etapas do seu desenvolvimento, associadas ao aumento na dependência da respiração aérea.

3.2 Objetivos Específicos

- Descrever as características anatômicas do coração de *A. gigas* e a distribuição de vasos coronários superficiais;
- Analisar com auxílio de microscopia eletrônica de varredura as características do miocárdio ventricular, com ênfase para o arranjo das lâminas trabeculares e distribuição de lacunas e microlacunas;
- Descrever a histologia do miocárdio e analisar a presença e distribuição de vasos coronários;
- Correlacionar os resultados obtidos com as diferentes fases de dependência da respiração aérea.

4. Referências

AMARAL, E. S. R. **O manejo comunitário de pirarucu (*Arapaima gigas*) como alternativa econômica para os pescadores das reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil**. 2009. 85 f. Dissertações (Mestrado em Gestão de Recursos Naturais e Desenvolvimento Local) – Universidade Estadual do Pará, Belém, 2009. Disponível em: <http://ppgedam.propesp.ufpa.br/ARQUIVOS/dissertacoes/2009_Dissertacao_Ellen.Silva.Ramos.Amaral.pdf>. Acesso em: 25 set. 2017.

ARARIPE, J. et al. Dispersal capacity and genetic structure of *Arapaima gigas* on different geographic scales using microsatellite markers. **PloS One**, San Francisco, v. 8, n. 1, p. e54470, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054470>>. Acesso em: 25 set. 2017.

BETANCUR-R, RICARDO et al. Phylogenetic classification of bony fishes. **BMC evolutionary biology**, v. 17, n. 1, p. 162, 2017.

BRAUNER, C. J.; VAL, A. L. The interaction between O₂ and CO₂ exchange in the obligate air breather, *Arapaima gigas*, and the facultative air breather, *Lipossarcus pardalis*. In: VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; RANDALL, D. J. (Ed.). **Physiology and biochemistry of the fishes of the Amazon**. Manaus: INPA, 1996. p. 101-110.

BRAUNER, C. J. et al. Transition in organ function during the evolution of air-breathing; insights from *Arapaima gigas*, an obligate air breathing teleost from the Amazon. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 207, n. 9, p. 1433-1438, 2004.

CAMILLI, J. A. et al. L'étude morphologique du coeur du "poraquê" (*Electrophorus electricus*). **Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch**, Leipzig, v. 135, n. 4, p. 557-565, 1989.

CASTELLO, L. Lateral migration of *Arapaima gigas* in floodplains of the Amazon. **Ecology of Freshwater Fish**, Malden, v. 17, n. 1, p. 38-46, 2008.

CAVERO, B. A. S. et al. Tolerância de juvenis de pirarucu ao aumento da concentração de amônia em ambiente confinado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 5, p. 513-516, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004000500015>>. Acesso em: 25 set. 2017.

CITES. **How CITES works**. Disponível em: <<https://www.cites.org/eng/disc/how.php>>. Acesso em: 20 set. 2017.

COX, G. K.; KENNEDY, G. E.; FARRELL, A. P. Morphological arrangement of the coronary vasculature in a shark (*Squalus suckleii*) and a teleost (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Morphology**, Hoboken, v. 277, n. 7, p. 896-905, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jmor.20543>>. Acesso em: 25 set. 2017.

DAVIE, P. S.; FARRELL, A. P. The coronary and luminal circulations of the myocardium of fishes. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 69, n. 7, p. 1993-2001, 1991. Disponível em: <<https://doi.org/10.1139/z91-278>>. Acesso em: 25 set. 2017.

DIOGO, R.; DOADRIO, I.; VANDEWALLE, P. Teleostean Phylogeny based on osteological and myological characters. **International Journal of Morphology**, v. 26, n. 3, p. 463-522, 2008.

DURÁN, A. C. et al. Structure and vascularization of the ventricular myocardium in Holocephali: their evolutionary significance. **Journal of Anatomy**, London, v. 226, n. 6, p. 501-510, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/joa.12317>>. Acesso em: 25 set. 2017.

FARRELL, A. P. Cardiovascular events associated with air breathing in two teleosts, *Hoplerythrinus unitaeniatus* and *Arapaima gigas*. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 56, n. 4, p. 953-958, 1978. Disponível em: <<https://doi.org/10.1139/z78-131>>. Acesso em: 25 set. 2017.

_____. The Wind-Kessel effect of the bulbus arteriosus in trout. **Journal of Experimental Zoology**, Hoboken, v. 209, n. 1, p. 169-173, 1979. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jez.1402090120>>. Acesso em: 25 set. 2017.

FARRELL, A. P.; JONES, D. R. The heart. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; FARRELL, A. P. (Ed.). **Fish physiology**: volume XII, part A: the cardiovascular system. San Diego: Academic, 1992. p. 1-88.

FARRELL, A. P.; SMITH, F. Cardiac form, function and physiology. **Fish Physiology**, Maryland Heights, v. 36, part A, p. 155-264, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/bs.fp.2017.07.001>>. Acesso em: 25 set. 2017.

FARRELL, A. P. et al. A perspective on the evolution of the coronary circulation in fishes and the transition to terrestrial life. In: SEDMERA, D.; WANG, T. (Ed.). **Ontogeny and phylogeny of the vertebrate heart**. New York: Springer, 2012. p. 75-102.

FERNANDES-CASTILHO, M. F. et al. Behavior and adaptation of air-breathing fishes. In: FERNANDES, M. N. et al. **Fish respiration and environment**. Enfield: Science Publishers, 2007. p. 121-145.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Cultured Aquatic Species Information Programme: *Arapaima gigas***. 2012. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Arapaima_gigas/en>. Acesso em: 20 Set. 2017.

GONÇALVES, M. T. D.; RECHE GARCIA, P. C.; GREMSKI, W. Estudo do coração de *Plecostomus commersonii* (Pisces): anatomia e microscopia eletrônica de varredura. **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba, v. 19, p. 101-120, 1990. Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/acta/article/view/780/622>>. Acesso em: 25 set. 2017.

GRAHAM J. B. **Air-breathing fishes**: evolution, diversity and adaptation. San Diego: Academic, 1997.

GREENWOOD, P. H.; LIEM, K, F. Aspiratory respiration in *Arapaima gigas* (Teleostei, Osteoglossomorpha): a reappraisal. **Journal of Zoology**, Chichester, v. 203, n. 3, p. 411-425, 1984. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1984.tb02341.x>>. Acesso em: 25 set. 2017.

GRIMES, A. C.; KIRBY, M. L. The outflow tract of the heart in fishes: anatomy, genes and evolution. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 74, n. 5, p. 983-1036, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02125.x>>. Acesso em: 25 set. 2017.

HOCHACHKA, P. W. et al. Metabolic biochemistry of water-vs. air-breathing fishes: muscle enzymes and ultrastructure. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 56, n. 4, p. 736-750, 1978. Disponível em: <<https://doi.org/10.1139/z78-103>>. Acesso em: 25 set. 2017.

HULBERT, W. C.; MOON, T. W.; HOCHACHKA, P. W. The osteoglossid gill: correlations of structure, function, and metabolism with transition to air breathing. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 56, n. 4, p. 801-808, 1978. Disponível em: <<https://doi.org/10.1139/z78-111>>. Acesso em: 25 set. 2017.

ICARDO, J. M. Conus arteriosus of the teleost heart: dismissed, but not missed. **The Anatomical Record Part A**, Hoboken, v. 288A, n. 8, p. 900-908, 2006.

_____. Heart morphology and anatomy. **Fish Physiology**, Maryland Heights, v. 36, Part A, p. 1-54, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/bs.fp.2017.05.002>>. Acesso em: 25 set. 2017.

_____. The Teleost heart: a morphological approach. In: SEDMERA, D.; WANG, T. (Ed.). **Ontogeny and phylogeny of the vertebrate heart**. New York: Springer, 2012. p. 35-53.

ICARDO, J. M.; COLVEE, E. The atrioventricular region of the teleost heart: a distinct heart segment. **The Anatomical Record**, Hoboken, v. 294, n. 2, p. 236-242, 2011.

ICARDO, J. M. et al. The heart of *Sparus auratus*: a reappraisal of cardiac functional morphology in teleosts. **Journal of Experimental Zoology**, part A: comparative experimental biology, Hoboken, v. 303A, n. 8, p. 665-675, 2005.

IMBIRIBA, E. P. Potencial de criação de pirarucu, *Arapaima gigas*, em cativeiro. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 31, n. 2, p. 299-316, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1809-43922001312316>>. Acesso em: 25 set. 2017.

INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL MAMIRAUÁ. **Estatuto social consolidado**: 1999-2012. Brasília, 2012.

ISAAC, V. J.; ROCHA, V. L. C.; MOTA, S. Considerações sobre a legislação da “piracema” e outras restrições da pesca da região do Médio Amazonas. In: FURTADO, L. G.; LEITÃO, W.; FIUZADE MELLO, A. **Povos das Águas, Realidade e Perspectivas na Amazônia Belém (Brasil)**. Belém: Ministério de Ciência e Tecnologia, Conselho Nacional de Pesquisa, Museu Paraense Emílio Goeldi, 1993, p. 188-211.

JOHANSEN, K. Air-breathing fishes. **Scientific American**, v. 219, n. 4, p. 102-111, 1968.

KERSHAW, D. R. A structural and functional interpretation of the cranial anatomy in relation to the feeding of osteoglossoid fishes and a consideration of their phylogeny. **Journal of Zoology**, Chichester, v. 33, n. 3, p. 173-252, 1976.

LAUDER, G. V.; LIEM, K. F. The evolution and interrelationships of the Actinopterygian fishes. **Bulletin of the Museum of Comparative Zoology**, Cambridge, v. 150, n. 3, p. 95-197, 1983.

LIMA, A. F. et al. **Alevinagem, recria e engorda de pirarucu**. Embrapa Pesca e Aquicultura-Livro técnico (INFOTECA-E), 2017.

MEUNIER, F. J.; BRITO, P. M.; LEAL, M. E. C. Morphological and histological data on the structure of the lingual toothplate of *Arapaima gigas* (Osteoglossidae; Teleostei). **Cybiurn**, Paris, v. 37, n. 4, p. 263-271, 2013.

MUNSHI, J. S. D. et al. Scanning electron microscopy of the heart of the climbing perch. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 59, n. 5, p. 1170-1180, 2001.

NELSON, J. S. Order Osteoglossiformes. In: _____. **Fishes of the world**. New Jersey: Wiley, 2006. p. 104-108.

OLIVEIRA, V.; POLETO, S. L.; VENERE, P. C. Feeding of juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*, Arapaimidae) in their natural environment, lago Quatro Bocas, Araguaiana-MT, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 3, n. 2, p. 312-314, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1679-62252005000200010>>. Acesso em 22 set. 2017.

OLSON, K. R. Circulatory system. In: OSTRANDER, G. K. (Ed.). **The laboratory fish**. San Diego: Academic, 2000. p. 161-171.

PEREIRA-FILHO, M. et al. Cultivo do pirarucu (*Arapaima gigas*) em viveiro escavado. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 33, n. 4, p. 715–718, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672003000400017>>. Acesso em 22 set. 2017.

PIEPERHOFF, S.; BENNETT, W.; FARRELL, A. P. The intercellular organization of the two muscular systems in the adult salmonid heart, the compact and the spongy myocardium. **Journal of Anatomy**, London, v. 215, n. 5, p. 536-547, 2009.

QUEIROZ, H. L. **Natural history and conservation of pirarucu, *Arapaima gigas*, at the Amazonian varzea**: red giants in muddy waters. 2000. 226 p. Thesis (PhD)

Doctor of Philosophy) – St Andrews University, Fife, 2000. Disponível em: <<https://research-repository.st-andrews.ac.uk/handle/10023/2818>>. Acesso em 22 set. 2017.

RAMOS, C. A., FERNANDES, M. N., DA COSTA, O. T. F., DUNCAN, W. P. Implications for osmorepiratory compromise by anatomical remodeling in the gills of *Arapaima gigas*. **The Anatomical Record**, v. 296, n. 10, p. 1664-1675, 2013.

RANTIN, F. T.; KALININ, A. L. O sistema cardiovascular. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. (Org.). **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 2014. p. 175-203.

REBELATTO JUNIOR, I. A. et al. **Reprodução e engorda do pirarucu**: levantamento de processos produtivos e tecnologias. Brasília: Embrapa, 2015.

SÁNCHEZ-QUINTANA, D.; HURLE, J. M. Ventricular myocardial architecture in marine fishes. **The Anatomical Record**, v. 217, n. 3, p. 263-273, 1987.

SÁNCHEZ-QUINTANA, D. et al. Myocardial fiber and connective tissue architecture in the fish heart ventricle. **Journal of Experimental Zoology**, Hoboken, v. 275, n. 2-3, p. 112-24, 1996.

SANTER, R. M. **Morphology and innervation of the fish heart**. Berlin: Springer, 1985. (Advances in anatomy, embryology and cell biology, 89).

SANTER, R. M. et al. On the morphology of the heart ventricle in marine teleost fish (teleostei). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, Philadelphia, v. 76, n. 3, p. 453-457, 1983. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0300-9629\(83\)90445-0](https://doi.org/10.1016/0300-9629(83)90445-0)>. Acesso em 22 set. 2017.

SATCHELL, G. H. A functional appraisal of the fish heart. **Federation Proceedings**, Washington, v. 29, n. 3, p. 1020-1023, 1970.

SCHIB, J. L. et al. The conus arteriosus of the adult gilthead seabream (*Sparus auratus*). **Journal of Anatomy**, London, v. 201, n. 5, p. 395-404, 2002.

SIMÕES, K. et al. Myoarchitecture and vasculature of the heart ventricle in some freshwater teleosts. **Journal of Anatomy**, London, v. 200, n. 5, p. 467-475, 2002.

SMITH, W. C. On the process of disappearance of the conus arteriosus in teleosts. **The Anatomical Record**, Hoboken, v. 15, n. 2, p. 65-71, 1918.

TOTA, B. Functional cardiac morphology and biochemistry in Atlantic bluefin tuna. In: SHARP, G. D.; DIZON, A. E. (Ed.). **The physiological ecology of tunas**. New York: Academic, 1978. p. 89-112.

_____. Myoarchitecture and vascularization of the elasmobranch heart ventricle. **Journal of Experimental Zoology**, Hoboken, v. 2, n. 2, p. 122-135, 1989.

TOTA, B. et al. Comparative study of the arterial and lacunary systems of the ventricular myocardium of elasmobranch and teleost fishes. **Journal of Anatomy**, London, v. 167, n. 1, p. 15-32, 1983.

TOUSSAINT, A. et al. Global functional diversity of freshwater fish is concentrated in the Neotropics while functional vulnerability is widespread. **Scientific Reports**, London, v. 6, n. 22125, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/srep22125>>. Acesso em 22 set. 2017.

VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. The Amazon ichthyofauna. In: VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. (Ed.). **Fishes of the Amazon and their environment: physiological and biochemical aspect**. Berlin: Springer, 1995. p. 28-70.

VENTURIERI, R.; BERNARDINHO, G. Pirarucu: espécie ameaçada pode ser salva através do cultivo. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, n. 53, 1999. Disponível em: <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/Revistas/53/Pirarucu.asp>>. Acesso em: 20 set. 2017.

WATSON, L. C.; STEWART, D. J.; TEECE, M. A. Trophic ecology of Arapaima in Guyana: giant omnivores in Neotropical floodplains. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 341-349, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1679-62252013000200012>>. Acesso em: 26 set. 2017.

YAMAUCHI, A. Fine structure of the fish heart. In: BOURNE, G. (Ed.) **Heart and Heart-like Organs**, v. 1, 1980, p. 119-148.