

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

*Análise parasitológica e microbiológica de tilápias do Nilo
(Oreochromis niloticus) criadas em tanques-rede no
reservatório de Água Vermelha - SP e suas inter-relações com
as variáveis limnológicas e fase de criação*



Aline Cristina Zago

**Botucatu, SP
2012**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**Análise parasitológica e microbiológica de tilápias do Nilo
(*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede no reservatório
de Água Vermelha - SP e suas inter-relações com as variáveis
limnológicas e fase de criação**

Aline Cristina Zago

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo José da Silva
Coorientadora: Dra. Fabiana Garcia Scaloppi

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (A/C Zoologia) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu/SP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, Área de Concentração: Zoologia.

**Botucatu, SP
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Zago, Aline Cristina.

Análise parasitológica e microbiológica de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede no reservatório de Água Vermelha - SP e suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação / Aline Cristina Zago. - Botucatu, 2012

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Reinaldo José da Silva

Coorientador: Fabiana Garcia Scaloppi

Capes: 21302022

1. Tilápia (Peixe) – Criação. 2. Peixe – Criação. 3. Doenças parasitárias.

Palavras-chave: Bacterioses; Ectoparasitas; Parasitoses; Piscicultura; Sanidade.

Agradecimientos

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar força em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais, José e Marli, pela confiança em mim depositada em todos os momentos, por todo o apoio e incentivo que me deram aos estudos e, principalmente, aos conselhos para não desistir apesar das dificuldades.

À minha irmã Francislaine, por me incentivar e acreditar em mim desde o início.

Aos meus sobrinhos, Gabriela, Igor e Isadora, por aguentarem essa tia desastrada e pelo carinho e alegria que me proporcionam.

Ao meu namorado, Daniel, pelo carinho, apoio e incentivo em todas as minhas atividades.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Reinaldo José da Silva, pelos ensinamentos, oportunidade e confiança em mim depositada desde o início. Você é uma pessoa por quem tenho muito respeito, carinho e admiração. Muito obrigada por tudo!

À Profa. Dra. Maria Conceição Zocoller Seno, de quem recebi os primeiros ensinamentos na área de Parasitologia. Obrigada pela amizade e por ter compartilhado comigo seus conhecimentos e suas experiências, com toda paciência, carinho e simplicidade que possui.

À minha companheira Lidiane, que vem compartilhando comigo as dificuldades e alegrias desde a época da graduação, obrigada pela amizade, companheirismo e conselhos. Você é uma pessoa muito especial em minha vida!

Aos pesquisadores da APTA de Votuporanga/SP, Fabiana e Sérgio, pela oportunidade concedida, ensinamentos e pelo auxílio para a realização deste trabalho.

A Daiane e Kátia Flávia, pelo valioso auxílio durante os trabalhos de campo e no laboratório. Obrigada pela amizade e momentos de alegria e descontração, adoro vocês!

Aos amigos do Instituto de Pesca de São José do Rio Preto/SP, Eduardo (Tuim), Pedro e Fernando, pela colaboração nos trabalhos de campo e laboratório.

Aos funcionários da APTA de Votuporanga/SP, pelo auxílio e acolhida.

Aos meus amigos que estão distantes, Joline, Renan, Cíntia Canisso e Amanda, que participaram de várias etapas da minha vida e que, apesar da minha ausência nos últimos anos, a cada novo reencontro nossa amizade é fortalecida.

A todos os meus amigos da época de graduação, dos quais sinto muita saudade.

Ao pessoal do LAPAS, Drausio, Lidiane Firmino, Aline (Jiripoca), Aline Acosta, Jaciara, Érica, Alison, Vanessa, Rodney, Gyslaine e Heleno pela amizade e colaboração.

Aos funcionários do Departamento de Parasitologia, Valdir, Roberto, Alessandra e Nilza, pela amizade e colaboração.

Ao Sr. Luís Borges, proprietário da Unidade de Piscicultura em Tanques-rede de Mira Estrela/SP, pela doação dos peixes para a realização deste projeto.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

A todos aqueles que estiveram ao meu lado, seja apoiando ou incentivando, na realização deste trabalho.

Sumário

<i>Resumo</i>	2
<i>Abstract</i>	4
 <i>Introdução geral</i>	
A piscicultura no Brasil.....	6
Principais problemas relacionados à sanidade em pisciculturas no Brasil.....	9
Principais parasitoses em cultivo de tilápias no Brasil.....	10
Infecções bacterianas que afetam tilápias em cultivo.....	12
Considerações finais.....	14
Referências bibliográficas.....	14
 <i>Objetivos</i>	
Gerais.....	20
Específicos.....	20
 <i>Artigo 1</i>	
Ectoparasitas de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) provenientes de cultivo em tanques-rede e suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação.....	21
Resumo.....	22
Abstract.....	23
Introdução.....	24
Material e métodos.....	25
Resultados.....	29
Discussão.....	41
Referências bibliográficas.....	44
Agradecimentos.....	44

Artigo 2

Bactérias isoladas de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) provenientes de cultivo em tanques-rede e suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação.....	49
Resumo.....	50
Abstract.....	51
Introdução.....	52
Material e métodos.....	53
Resultados.....	57
Discussão.....	61
Agradecimentos.....	65
Referências bibliográficas.....	66

Resumo

RESUMO

O Brasil reúne condições extremamente favoráveis para a aquicultura, principalmente devido ao seu grande potencial hídrico. Nos últimos anos, a tecnologia de piscicultura em tanques-rede vem sendo amplamente difundida no Brasil, uma vez que possibilita o aproveitamento de recursos aquáticos já existentes e exige menores investimentos quando comparado à piscicultura tradicional. O aumento significativo das atividades relacionadas a aquicultura tem aumentado consideravelmente a relevância dos estudos desenvolvidos com parasitas, bactérias e outros patógenos de organismos aquáticos, principalmente daqueles hospedeiros com potencial para o cultivo e para a comercialização. Desta forma, o objetivo deste projeto consistiu em analisar, sob o ponto de vista parasitológico e microbiológico, espécimes de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede no reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, bem como observar suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fases de criação. Durante o período de março de 2010 a março de 2011, foram estudados 63 peixes, pertencentes a três fases de criação (inicial, intermediária e final). Com relação à análise parasitológica, verificou-se a presença de quatro espécies e um gênero de protozoário, bem como três espécies e dois gêneros de monogenóides. No período seco, foi observada maior abundância de *Trichodina* spp. e prevalência de *Epistylis* sp.; e no período chuvoso, houve maior prevalência de *Cichlidogyrus halli*. Verificou-se que para a maioria dos ectoparasitas encontrados, os peixes pertencentes às fases intermediária e final encontravam-se com maiores taxas de parasitismo do que aqueles pertencentes a fase inicial. Quanto à análise microbiológica, foi observada a presença de oito espécies e sete gêneros de bactérias, sendo que 42,9% dos peixes estavam infectados por pelo menos uma espécie ou gênero destes organismos. Não foram observadas diferenças na prevalência das bactérias com relação às fases de criação ou sazonalidade. Entre as bactérias submetidas ao teste do antibiograma, foi verificada sensibilidade a apenas dois dos antibióticos testados. Através dos resultados obtidos, pode-se constatar a ocorrência no reservatório estudado, das principais parasitoses e bacterioses que acometem o cultivo de *O. niloticus*, e que as características limnológicas e fase de criação influenciaram na ocorrência das parasitoses.

Palavras-chave: piscicultura, sanidade, ectoparasitas, parasitoses, bacterioses.

Abstract

ABSTRACT

Brazil presents extremely favorable conditions to aquaculture, mainly due to its large hydric potential. In recent years, fish cage technology has been widespread in Brazil because it allows the use of water resources and requires less investment compared to traditional fish farming. Significant growth in activities related to aquaculture has considerably increased the relevance of studies with parasites, bacterias and other pathogens of aquatic organisms, especially of those hosts with potential to fish farming and marketing. Thus, this study aimed to perform a parasitological and microbiological analyzes of tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivated in fish cages from Água Vermelha Reservoir, São Paulo State, Brazil, as well as observe their inter-relations with limnological and fish production phase. From March 2010 to March 2011, 63 fish belonging to three fish production phases (initial, intermediate and final) were studied. For the parasitological analysis, it was found four species and one genus of protozoans, as well as three species and two genus of monogeneans. It was observed a higher abundance of *Trichodina* spp. and prevalence of *Epistylis* sp. in the dry season and a higher prevalence of *Cichlidogyrus halli* in the rainy season. The majority of ectoparasites found presented higher rates of parasitism in that fish specimens belonging to intermediate and final phases. In relation to microbiological analysis, it was observed the occurrence of eight species and seven genus of bacteria, and 42.9% of fish were infected with at least one species or genus of these organisms. There were no differences in the prevalence of bacteria in relation to fish phase creation or seasonality. It was observed susceptibility only for two antibiotics tested among bacteria submitted to antibiogram test. According to data obtained, it was possible to verify the occurrence in the reservoir studied of the main parasitosis and bacteriosis that affect the cultivation of *O. niloticus*, and that the limnological characteristics and fish creation phase influenced only the occurrence of parasites.

Keywords: fish farming, health, ectoparasites, parasitosis, bacteriosis.

Introdução geral

INTRODUÇÃO GERAL

A piscicultura no Brasil

O Brasil apresenta condições extremamente favoráveis para a aquicultura, principalmente devido ao seu grande potencial hídrico. São mais de 8.000 km de zona costeira e cinco milhões de hectares de água doce em reservatórios naturais e artificiais, os quais podem ser aproveitados para a produção de organismos aquáticos (Ono & Kubitza, 1999).

A produção aquícola no Brasil vem crescendo significativamente nos últimos anos. Em 2008, o setor apresentou uma elevação na produção de 34,4%, quando comparada com a de 2007. Esse crescimento, embora menor, teve continuidade em 2009, quando se chegou a 19,6% em comparação com 2008. Este incremento pode ser um reflexo das políticas públicas voltadas para o setor e que contribuíram para melhorar o acesso aos programas desenvolvidos pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (Brasil, 2010).

No âmbito regional, a produção aquícola se encontra ascendente em todo o Brasil. No Estado de São Paulo, a aquicultura apresenta um expressivo crescimento, sendo responsável pela segunda maior produção de pescado do país, totalizando 38.503 t/ano (Brasil, 2010).

Dentre as estruturas de cultivo que o Brasil emprega para a engorda de organismos aquáticos, destacam-se a utilização de açudes, viveiros escavados e tanques-rede (Brasil, 2010).

Nos últimos anos, o cultivo de peixes em tanques-rede tem se desenvolvido com maior intensidade no Brasil (Brasil, 2010). Esta modalidade de cultivo é bastante difundida em todo o mundo, uma vez que possibilita o aproveitamento de ambientes aquáticos já existentes e exige menores investimentos quando comparada à piscicultura tradicional, praticada em viveiros escavados (Ono & Kubitza, 1999).

Alguns reservatórios, inicialmente destinados para o abastecimento humano, geração de energia elétrica e irrigação, dentre outras finalidades, vêm sendo progressivamente utilizados para a instalação de projetos de piscicultura em tanques-rede (Sampaio & Braga, 2005). Tal fato deve-se a iniciativas do governo brasileiro (decreto nº 4.895, de 25 de novembro de 2003) para o ordenamento da implantação de sistemas de

aquicultura em tanques-rede em águas públicas, nos grandes reservatórios das unidades hidroelétricas. Foi disponibilizado pela União até 1% desses ecossistemas artificiais para atividades com esta finalidade, cujo processo de licenciamento e outorga devem ocorrer no contexto dos múltiplos usos das águas públicas, e dependem de um complexo sistema de autorização que envolve vários órgãos públicos federais e estaduais, tais como a SEAP (Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca), ANA (Agência Nacional de Águas), e DAEE (Departamento de Águas e Energia Elétrica), entre outros (Zica, 2008).

Essa situação pode ser observada em vários reservatórios no Brasil, como por exemplo, o reservatório de Água Vermelha, pertencente à Bacia Hidrográfica do rio Grande, na região Sudeste do país.

O rio Grande nasce na Serra da Mantiqueira, no município de Bocaina de Minas, Estado de Minas Gerais, a uma altitude de aproximadamente 1.980 m. A Bacia do rio Grande apresenta uma área de drenagem de 143.437,8 km², dos quais 57.092,4 km² (39,8%) encontram-se dentro de território paulista, e 86.345,4 km² (60,2%) em território mineiro (Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 2008).

O rio Grande desempenha um importante papel no fornecimento de energia elétrica, uma vez que se encontram presentes ao longo de seu curso 13 usinas hidroelétricas: Alto rio Grande, Camargos, Itutinga, Funil, Furnas, Marechal Mascarenhas de Moraes (ex-Peixoto), Estreito, Jaguará, Igarapava, Volta Grande, Porto Colômbia, Marimbondo e Água Vermelha, além de parte do reservatório de Ilha Solteira (Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 2008).

Recentemente, foi implantado pela primeira vez no reservatório de Água Vermelha um empreendimento para a criação de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) em sistema de cultivo em tanques-rede.

Atualmente são reconhecidas mais de 70 espécies de tilápias provenientes de três diferentes gêneros: *Oreochromis* Günther, 1889, *Sarotherodon* Rüppell, 1852 e *Tilapia* Smith, 1840 (Zanolo & Yamamura, 2006). Entretanto, apenas as variedades do gênero *Oreochromis* conquistaram destaque na aquicultura mundial, como: a tilápia de Moçambique, *Oreochromis aureus* Steindachner, 1864; a tilápia de Zambibar, *Oreochromis urolipis hornorum* Trewavas, 1966; e a tilápia do Nilo, *O. niloticus*, sendo esta última, a mais criada em todo mundo devido a sua ótima adaptação ao cativeiro (Kubtiza, 2000).

Oreochromis niloticus pertence a Ordem Perciformes, Família Cichlidae, e pode atingir até 60 cm de comprimento. É originária do continente africano, onde é encontrada nos rios litorâneos de Israel, rios Nilo e Jebel Marra e nas bacias dos rios Níger, Benue, Volta, Gâmbia, Senegal e Chade (Froese & Pauly, 2011). Com a finalidade de melhorar a produtividade pesqueira e para auxiliar no desenvolvimento da aquicultura, este ciclídeo foi introduzido em mais de 100 países das regiões tropicais e subtropicais (Coward & Bromage, 2000; Lèveque, 2002).

Entre as espécies exóticas que o Brasil utiliza como fonte de economia, a tilápia do Nilo apresenta grandes vantagens competitivas em relação às nativas (Lizama *et al.*, 2007). Tal fato pode ser explicado, em parte, não somente pela rusticidade que caracteriza a espécie, como também pelo fato de já existirem informações detalhadas sobre suas características biológicas e zootécnicas, as quais podem ser aproveitadas em condições de cultivo (Boscardin, 2008). Destacam-se, dentre as suas principais características: curto ciclo de produção, rápido crescimento, tolerância a ambientes superpovoados, consumo de alimento natural, bem como de rações balanceadas e resíduos agropecuários de origem animal e vegetal, ótima qualidade de carne, ausência de mioespinhas, facilidade de filetagem e industrialização da carcaça, boa aceitação do filé no mercado consumidor e resistência ao manejo e às doenças (Leonhardt, 1997).

As tilápias (*O. niloticus* e *Tilapia rendalli* Boulenger, 1897) são as espécies de peixes mais produzidas no Brasil, podendo ser encontradas em praticamente todo o território nacional, exceto nas regiões abrangidas pelas Bacias do Amazonas e Paraguai, onde seu cultivo não é permitido pela legislação ambiental vigente. A produção de tilápias, em 2009, representou 39% do total de pescado proveniente da aquicultura brasileira (Brasil, 2010).

Os diagnósticos e as prospecções que emergem dos trabalhos sobre aquicultura evidenciam que esta é uma atividade de grande importância e em pleno crescimento no Brasil (Sebrae, 2006). Desta forma, observa-se um crescente interesse dos pesquisadores e criadores, no que se refere aos prejuízos causados por mortalidade e problemas na produção de peixes (Schalch, 2011). A seguir, serão apresentados os principais problemas relacionados à sanidade em pisciculturas no Brasil.

Principais problemas relacionados à sanidade em pisciculturas no Brasil

O aumento significativo das atividades relacionadas à aquicultura, observado no Brasil e no mundo, tem aumentado consideravelmente a relevância dos estudos desenvolvidos com parasitas, bactérias e outros patógenos de organismos aquáticos, principalmente daqueles hospedeiros com potencial para o cultivo e para a comercialização (Thatcher & Brites-Neto, 1994). Desta forma, nos sistemas de produção intensiva de peixes, a sanidade é um dos aspectos mais relevantes para a criação comercial de qualquer espécie.

Nos sistemas de produção intensiva, como por exemplo, a criação de peixes em tanques-rede, são utilizadas altas densidades de estocagem, sendo comuns neste tipo de exploração problemas de manejo, má qualidade da água, questões nutricionais, entre outros (Kubtiza, 2000). Estes fatores de estresse ambiental refletem-se na homeostasia dos peixes, predispondo-os ao ataque de organismos patogênicos (Pavanelli *et al.*, 2008). Esses agentes, em tais condições de estresse, podem desencadear surtos epizooticos graves e dizimar criações inteiras em poucos dias. Tal situação ocorre principalmente devido ao descaso com as medidas preventivas na introdução de peixes novos e também pela presença de peixes selvagens parasitados (Onaka, 2009).

As bactérias apresentam grande importância na piscicultura intensiva, uma vez que podem ocasionar impacto econômico considerável devido às doenças que provocam. As taxas de mortalidade podem ser bastante elevadas em surtos causados por esses organismos, uma vez que o tratamento é bastante difícil e muitas vezes ineficaz. Por esta razão, tais doenças são de declaração obrigatória em muitos países (Pavanelli *et al.*, 2008).

Especial atenção também deve ser dada às parasitoses, que consistem em uma das maiores causas de perdas na piscicultura industrial e esportiva. Apresentam maior relevância na região Neotropical, devido às características climáticas apresentadas por essa região, as quais propiciam sua rápida e constante propagação (Thatcher & Brites-Neto, 1994). Soma-se a isso, o fato de que o ambiente aquático facilita a reprodução, dispersão e sobrevivência dos parasitas (Carvalho *et al.*, 2003).

Os danos causados ao hospedeiro por doenças parasitárias dependem de vários fatores, como: o grupo do parasita em questão, a sua localização e o modo particular como atuam sobre o hospedeiro. Dentro deste contexto, as lesões branquiais são particularmente importantes, uma vez que esse órgão reage fortemente a presença de parasitas, provocando

uma acentuada proliferação celular e implicando na diminuição ou perda da respectiva atividade respiratória que, nos casos mais graves, pode provocar a morte do hospedeiro por asfixia (Pavanelli *et al.*, 2008).

Ademais, as perdas causadas por parasitas e outros patógenos representam um fator determinante para o sucesso da piscicultura, pois além de disseminar agentes patogênicos para o ambiente, representam riscos à saúde pública (Braccini *et al.*, 2008). Neste cenário, destaca-se a importância do diagnóstico laboratorial para a realização do tratamento, uma vez que a utilização inadequada de um produto pode causar impacto negativo, tanto nos peixes como no meio ambiente, bem como o surgimento de espécies de parasitas e bactérias resistentes (Vargas, 2004).

Dada a importância dos parasitas e bactérias nos sistemas de cultivo, a seguir é apresentada uma breve revisão sobre as principais doenças causadas por esses organismos em *O. niloticus*.

Principais parasitoses em cultivo de tilápias no Brasil

Diversas parasitoses acometem o cultivo de *O. niloticus*, porém destacam-se aquelas causadas por protozoários ciliados (Filo Ciliophora) e por monogenóides (Kubtiza, 2000; Shoemaker *et al.*, 2000).

Dentre os protozoários do Filo Ciliophora, destacam-se aqueles pertencentes ao gênero *Trichodina* sp. Ehrenberg, 1830, e também a espécie *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876. Aparentemente, estes ciliados vivem como ectocomensais no tegumento e nas brânquias dos peixes sem causar grandes prejuízos, a não ser em infestações maciças. Em condições favoráveis de reprodução, podem ser observadas grandes infestações, tais como em ambientes com excesso de matéria orgânica e baixas quantidades de oxigênio dissolvido nos locais de criação (Eiras, 1994).

Trichodina sp. é um protozoário que apresenta formato circular e um disco adesivo com uma série de dentículos. São usualmente considerados ectoparasitas de pele e brânquias do hospedeiro, podendo se proliferar rapidamente na presença de material em decomposição. Sua patogenicidade deve-se aos movimentos giratórios que realizam sobre as brânquias e tegumento do hospedeiro, ato que acaba danificando as células epiteliais (Heckmann, 1996). Altas infestações por *Trichodina* sp. ocorrem com maior frequência em

sistemas intensivos de criação de tilápias, principalmente durante a reversão sexual, nas fases de pós-larva e alevino (Zanolo & Yamamura, 2006).

Outro protozoário que pode acometer criações de tilápias é o *I. multifiliis*, que apesar de normalmente ser citado como ectoparasita, localiza-se subepidermicamente, apresentando aparência de pequenos pontos brancos na pele e nas brânquias dos peixes. Normalmente, os peixes jovens são os mais susceptíveis, sendo que altas infestações geralmente estão associadas a quedas bruscas na temperatura da água. As lesões causadas por este agente em infestações intensas, aliada a sua enorme capacidade reprodutora, podem provocar grandes taxas de mortalidade, mesmo em populações selvagens, sendo provavelmente o protozoário que mais causa prejuízos às pisciculturas no mundo (Eiras, 1994).

Os monogenóides são helmintos pertencentes ao Filo Platyhelminthes, que atuam como ectoparasitas na superfície do corpo, brânquias, cavidade nasal e sistema urinário de peixes (Takemoto *et al.*, 2004). Possuem forma alongada, ovoidal ou circular, são hermafroditas, e caracterizam-se pela presença de um aparelho de fixação localizado geralmente na parte posterior do corpo, chamado de haptor, utilizado para fixação no corpo do hospedeiro (Pavanelli *et al.*, 2008).

A presença de monogenóides nas brânquias dos peixes pode ocasionar hiperplasia celular, hipersecreção de muco e, em alguns casos, fusão de filamentos das lamelas branquiais. Em casos de produção excessiva de muco, pode ocorrer impermeabilização das brânquias, dificultando a respiração e levando os indivíduos à morte. Quando esses ectoparasitas se encontram junto ao tegumento, geralmente causam lesões menos acentuadas, no entanto, podem abrir caminhos para a instalação de infecções secundárias (Pavanelli *et al.*, 2008).

De acordo com Pavanelli *et al.* (2008), as doenças causadas por monogenóides estão entre as mais importantes para a piscicultura, uma vez que podem provocar altas taxas de mortalidade.

Lizama *et al.* (2007) realizaram um estudo da relação parasito-hospedeiro em três pisciculturas da região de Assis, Estado de São Paulo, Brasil. Um total de 90 espécimes de *O. niloticus* foi coletado, sendo que 82,2% estavam parasitados por pelo menos uma espécie de parasita, como: os monogenóides *Cichlidogyrus sclerosus* Paperna & Thurston, 1969, *Cichlidogyrus* sp. 1 Paperna, 1960 e *Cichlidogyrus* sp. 2; o crustáceo *Lamproglena*

sp. von Nordmann, 1832 (encontrado em três estágios de desenvolvimento: jovem, imaturo e adulto) e uma espécie de ergasilídeo.

Braccini *et al.* (2008) estimaram a prevalência de ectoparasitas de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem Chitralada, cultivadas em tanques-rede nos rios do Corvo e Guairacá, Estado do Paraná, Brasil. No Rio do Corvo, a prevalência total de ectoparasitas foi de 38,2%, com maior prevalência de monogenóides (19,4%); e no Rio Guairacá, a prevalência total foi de 44,2%, com maior prevalência de tricodinídeos (17,4%).

A presença de ectoparasitas em alevinos de *O. niloticus*, das linhagens Chitralada e GIFT, cultivadas em diferentes densidades (30, 40 e 50 peixes/m³) e alimentadas com 25 e 30% de proteína bruta, foi analisada por Braccini *et al.* (2007). As prevalências observadas de *Trichodina* sp., monogenóides da família Dactylogyridae e infecção mista, variaram de 26,2 a 73,3%, 0 a 11,9%, e 13,4 a 33,3%, respectivamente, na linhagem Chitralada, e de 33,3 a 73,3%, 0 a 16,7%, e 0 a 33,3%, respectivamente, na linhagem GIFT. *Trichodina* sp. foi o ectoparasita que apresentou maior prevalência, tanto na linhagem Chitralada como na GIFT. Os peixes da linhagem GIFT, cultivados na maior densidade, apresentaram maior de prevalência de ectoparasitas quando comparados aos da linhagem Chitralada.

Infecções bacterianas que afetam tilápias em cultivo

As bactérias constituem-se importantes patógenos na piscicultura intensiva, devido a sua facilidade de disseminação e por apresentarem um caráter oportunista (Kubtiza, 2000; Pavanelli *et al.*, 2008). Embora existam inúmeras bactérias patogênicas, algumas delas são de ocorrência frequente e apresentam maior impacto econômico na produção comercial de peixes cultivados, como: *Streptococcus* spp. Rosenbach 1884, *Aeromonas* spp. Kluver & van Niel, 1936, *Pseudomonas* spp. Migula, 1894 e *Flavobacterium columnare* Bernardet *et al.*, 2002 (Kubtiza & Kubtiza, 2004).

Uma grande variedade de bactérias do gênero *Streptococcus* foi associada a septicemias em peixes, sendo uma das doenças mais sérias nos sistemas de cultivos de tilápias. Infecções por esta bactéria também foram registradas em seres humanos que manipulavam peixes no Canadá, sendo isolada de algumas pessoas que apresentavam um quadro clínico de inflamação nas camadas mais profundas da pele das mãos e braços, com edema e vermelhidão (Kubtiza, 2000).

As bactérias *F. columnare*, *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas* spp. normalmente habitam os sistemas aquáticos e convivem em equilíbrio com os peixes. Entretanto, quando ocorre algum distúrbio ambiental ou pressão de manejo, as doenças causadas por essas bactérias começam a aparecer (Kubtiza & Kubtiza, 2004).

As bactérias dos gêneros *Aeromonas* e *Pseudomonas* podem causar um quadro de infecção generalizada (septicemia hemorrágica) em peixes, principalmente em períodos de temperaturas baixas ou amenas, quando a resposta imunológica desses animais é reduzida (Kubtiza, 2000).

Flavobacterium columnare causa uma doença conhecida como “columnariose” ou “doença da boca de algodão ou da cauda comida”. Esta bactéria se instala em ferimentos ou lesões corporais causadas aos peixes durante o manuseio (pesagem, despesa e transporte) ou por parasitas (Kubtiza & Kubtiza, 2004). Os peixes infectados por *F. columnare* geralmente apresentam lesões nas margens das nadadeiras (principalmente a caudal), com aspecto de apodrecimento das mesmas, e áreas necróticas amareladas nas brânquias (colônias de bactérias), que podem destruir parte do epitélio branquial, dificultando a respiração e causando a morte dos peixes por asfixia (Kubtiza & Kubtiza, 2004; Figueiredo & Leal, 2008).

Siti-Zahrah *et al.* (2008) observaram surtos de mortalidade periódica em cultivo de tilápia (*O. niloticus*) em tanques-rede nos reservatórios de Tasik Kenyir, Terengganu e Pergau Tasik, na Malásia. Estes incidentes foram associados com o início da estação seca no país (março a junho), sendo que o isolamento bacteriano de amostras dos olhos, cérebro e rim revelaram a presença de *Streptococcus agalactiae* Lehmann & Neumann, 1896 em 70% dos espécimes analisados, e *Leuconostoc* spp. van Tieghem, 1878 e *S. constellatus* Whiley *et al.*, 1999 em 30% dos espécimes. A maioria dos peixes examinados apresentaram como sintomas: natação errática e anomalias oculares (opacidade da córnea e exoftalmia - unilateral ou bilateral).

Figueiredo *et al.* (2005) caracterizaram a primeira cepa brasileira de *F. columnare* isoladas de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) e bagre do canal (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818), através de um surto da doença ocorrida em sistemas de recirculação de água. Os autores também demonstraram a patogenicidade da doença nesses peixes.

Rodrigues (2007) isolou várias espécies pertencentes ao gênero *Aeromonas* (*A. hydrophila* Stanier, 1943, *A. sobria* Popoff & Vron, 1981, *A. veronii* Hickman-Brenner *et al.*, 1988, *A. caviae* Popoff, 1984, *A. trota* Carnahan *et al.*, 1992 e *A. media* Allen *et al.*, 1983) em tilápias do Nilo (*O. niloticus*), originárias de pisciculturas dos municípios de Cachoeiras de Macacu e de Piraí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Considerações finais

O sucesso dos empreendimentos aquícolas depende de vários fatores, sendo que um dos mais importantes refere-se a condição sanitária dos animais que estão sendo cultivados (Pavanelli *et al.*, 2008). Dessa forma, o monitoramento do estado de saúde dos peixes é essencial para garantir a produção de animais saudáveis e evitar perdas na atividade (Onaka, 2009). Ademais, o conhecimento da distribuição sazonal dos organismos causadores de enfermidades, assim como, da complexa relação entre fatores ambientais, hospedeiros e patógenos são importantes para que se possa intervir no sistema, com técnicas profiláticas adequadas, através de programas preventivos de controle destas enfermidades (Schalch & Moraes, 2005).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2008-2009**. 2010. 99 p. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/docs/anu%20do%20rio%20da%20pesca%20completo2.pdf>>

Acesso em: 20 dez. 2011.

BOSCARDIN, N. R. Produção Aquícola. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R. & SOTO, D. (Org.). **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília, 2008. p. 27-72.

BRACINI, G. L.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. & FÜLBER, V. M. Ectoparasitas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), das linhagens Chitralada e GIFT, em diferentes densidades e alimentadas com dois níveis de proteína. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.29, n.4, p. 441-448, 2007.

BRACCINI, G. L.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; FILHO, L. A. & DIGMAYER, M. Ectoparasitos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivados em tanques-rede nos rios do Corvo e Guairacá, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, p. 24-29, 2008.

CARVALHO, L. N.; DEL-CLARO, K. & TAKEMOTO, R. M. Host-parasite interaction between branchiurans (Crustacea: Argulidae) and piranhas (Osteichthyes: Serrasalminae) in the Pantanal wetland of Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v. 67, p. 289-296, 2003.

COWARD, K. & BROMAGE N. R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.10, p. 1-25, 2000.

EIRAS, J. C. **Elementos da Ictioparasitologia**. Porto: Fund. Eng. Antônio de Almeida, 1994. 339 p.

FIGUEIREDO, H. C. P.; KLESZIUS, P. H.; ARIAS, C. R.; EVANS, J.; SHOEMAKER, C. A.; PEREIRA-JR, D. J. & PEIXOTO, M. T. D. Isolation and characterization of strains of *Flavobacterium columnare* from Brazil. **Journal of Fish Diseases**, v.28, p. 199-204, 2005.

FIGUEIREDO, H. C. P. & LEAL, C. A. G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.8-14, 2008.

FROESE, R.; PAULY, D. (Ed). **FishBase**. World Wide Web electronic publication. Version (12/2011). Disponível em: <www.fishbase.org> Acesso em: 15 de dez. 2011.

HECKMANN, R. Protozoan Parasites of Fish, Part II. **Aquaculture Magazine**, p. 56-59, 1996.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS. Relatório técnico Nº 96.581-205. **Diagnóstico da situação dos recursos hídricos na Bacia Hidrográfica do Rio Grande (BHRG) – SP/MG**. São Paulo, 1998. 55 p. Disponível em: <http://www.grande.cbh.gov.br/_docs/outros/DiagnosticodaSituacaodosRHnoRioGrande.pdf> Acesso em: 20 dez. 2011.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: F. Kubitza, 2000. 289 p.

KUBITZA, F. & KUBITZA, L. M. M. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. 4^a. ed. Jundiaí: F. Kubitza, 2004. 118 p.

LEONHARDT, J. H. **Efeito da reversão sexual em tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)**. 1997. 141 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – *Campus* de Jaboticabal, Jaboticabal, 1997.

LÈVEQUE, C. Out of Africa: the success story of tilapias. **Environmental Biology of Fishes**, v.64, p. 461-464, 2002.

LIZAMA, M. A. P.; TAKEMOTO, R. M.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; AYROZA, L. M. S. & PAVANELLI, G. C. Relação parasito-hospedeiro em peixes de pisciculturas da região de Assis, Estado de São Paulo, Brasil. 1. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 29, n. 2, p. 223-231, 2007.

ONAKA, E. M. Acompanhamento do estado parasitológico de peixes mantidos em tanques-rede e em ambiente natural nos reservatórios de Nova Avanhandava e Ilha Solteira (SP). In: Castellani, D. (Ed.) **I Workshop de Piscicultura do Noroeste Paulista** - 13 de março, Votuporanga, SP, Brasil, 2009.

ONO, E. A. & KUBITZA, F. **Cultivo de peixes em tanques-rede**. Jundiaí: Kubitza, 1999. 68 p.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C. & TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3^a ed. Maringá: Eduem, 2008. 311 p.

RODRIGUES, E. **Pesquisa de *Aeromonas* spp. em tilápia (*Oreochromis niloticus*), cultivada no estado do Rio de Janeiro - Brasil: isolamento, identificação de espécies e avaliação da sensibilidade antimicrobiana**. 2007. 208 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2007.

SAMPAIO, J. M. C. & BRAGA, L. G. T. Cultivo de tilápia em tanques-rede na barragem do Ribeirão de Saloméa – Floresta Azul – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.6, n.2, p. 42-52, 2005.

SCHALCH, S. H. C. & MORAES, F. R. Distribuição sazonal de parasitos branquiais em diferentes espécies de peixes em pesque-pague do município de Guariba - SP, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.14, n.4, p. 141-146, 2005.

SCHALCH, S. H. C. Impactos causados por parasitoses em peixes criados na região noroeste paulista do Estado de São Paulo. **Pesquisa & Tecnologia**, v.8, n.38. 6 p. 2011.

SEBRAE. **Diagnóstico da cadeia produtiva da tilápia na Bahia**. Salvador: Sebrae, 2006. 93 p.

SHOEMAKER, C. A., PHILLIP, K. & JOYCE, E. Diseases of tilapia with emphasis on economically important pathogens. 2000, Rio de Janeiro. In: 5th International Symposium on Tilapia Aquaculture. **Anais...** Rio de Janeiro, 2000. 565-572 p.

SITI-ZAHRAH, A.; PADILAH, B.; AZILA, A.; RIMATULHANA, R. & SHAHIDAN, H. Multiple streptococcal species infection in cage-cultured red tilapia but showing similar clinical signs. In: BONDAD-REANTASO, M.; MOHAN, C.; CRUMLISH, M. & SUBASINGHE, R. (Org.). **Diseases in Asian Aquaculture VI**. Manila: Asian Fisheries Society, 2008. 313-320 p.

TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P.; GHIDELLI, G. M. & PAVANELLI, G. C. Parasitos de peixes de águas continentais. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. & LIZAMA, M. A. P. **Sanidade de Organismos Aquáticos**. São Paulo: Varela, 2004. 179-197 p.

THATCHER, V. E. & BRITES-NETO, J. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.16, n.3, p. 111-128, 1994.

VARGAS, L. Efeito da vitamina C, da vitamina E, do cloreto de sódio e da formalina na ocorrência de ectoparasitos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M. & LIMA, M. L. A. P. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Liv. Varela, 2004. 371-382 p.

ZANOLO, R. & YAMAMURA, M. H. Parasitas em tilápias-do-nilo criadas em sistema de tanques-rede. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.2, p. 281-288, 2006.

ZICA, E. O. P. **Análise parasitológica de peixes em sistemas de Tilapicultura em tanques-redes e suas inter-relações com a ictiofauna residente e agregada**. 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista – *Campus* de Botucatu, Botucatu, 2008.

Objetivos

OBJETIVOS

- ***Gerais:***

Avaliar, do ponto de vista parasitológico e microbiológico, exemplares de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) provenientes de cultivo em tanques-rede na bacia do rio Grande, reservatório de Água Vermelha - SP, bem como observar suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação.

- ***Específicos:***

1. Determinar a prevalência, abundância, intensidade de infecção, frequência de dominância e dominância relativa média dos ectoparasitas encontrados em tilápias do Nilo provenientes do reservatório de Água Vermelha - SP.

2. Determinar a prevalência das bactérias encontradas em tilápias do Nilo provenientes do reservatório de Água Vermelha - SP.

3. Correlacionar as taxas de parasitismo de cada espécie de parasita com as variáveis limnológicas e entre as diferentes fases de criação.

4. Correlacionar as taxas de parasitismo de cada espécie de bactéria com as variáveis limnológicas e entre as diferentes fases de criação.

Artigo 1

Ectoparasitas de tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus) provenientes de cultivo em tanques-rede e suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação

Artigo preparado segundo as normas da revista "Journal of fish diseases"

RESUMO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) vem ocupando lugar de destaque no cenário da piscicultura mundial, constituindo-se numa das espécies mais indicadas para o cultivo intensivo em regiões tropicais. Esse sistema de cultivo de peixes possui como característica densidades populacionais elevadas, favorecendo a ocorrência de surtos epizoóticos, visto a possibilidade da presença de diferentes organismos patogênicos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo realizar análise parasitológica de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) criadas em tanques-rede no reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, bem como observar suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação. Durante o período de março de 2010 a março de 2011, foram coletados 63 peixes, pertencentes a três fases de criação. Verificou-se a presença de quatro espécies e um gênero de protozoário, bem como três espécies e dois gêneros de monogenóides. No período seco, foi observada maior abundância de *Trichodina* spp. e prevalência de *Epistylis* sp.; e no período chuvoso, houve maior prevalência de *Cichlidogyrus halli*. Verificou-se que para a maioria dos ectoparasitas encontrados, os peixes pertencentes às fases intermediária e final encontravam-se com maiores taxas de parasitismo do que aqueles pertencentes à fase inicial.

Palavras-chave: piscicultura, sanidade, monogenóide, *Trichodina* spp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Piscinoodinium pillulare*.

ABSTRACT

The “tilápia-do-Nilo” (*Oreochromis niloticus*) stands out in production systems and is one of the most commonly used species in intensive culture in tropical regions. This system of fish culture is characterized as high population densities, favoring the occurrence of epizootic outbreaks, by the presence of different pathogens. Thus, this study aimed to perform a parasitological analysis of tilapia do Nilo (*O. niloticus*) cultivated in fish cages from Água Vermelha Reservoir, São Paulo State, Brazil, as well as observe their interrelations with limnological and fish production phase. From March 2010 to March 2011 were collected 63 specimens belonging to three fish production phases. It was observed the presence of four species and one genus of protozoans, as well as three species and two genus of monogeneans. Significant difference was verified in the abundance of *Trichodina* spp. and prevalence of *Epistylis* sp. in the dry season, and prevalence of *Cichlidogyrus halli* in the rainy season. For the majority of ectoparasites found in this study, fish belonging to intermediate and final phases presented higher rates of parasitism than those belonging to the initial phase.

Keywords: fish farming, health, monogeneans, *Trichodina* spp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Piscinoodinium pillulare*.

INTRODUÇÃO

A piscicultura constitui-se de um tipo de exploração animal que vem se tornando cada vez mais importante como fonte de proteínas para o consumo humano. No contexto internacional, o Brasil se coloca como um dos países com grande potencial para a piscicultura, pois possui um vasto território e suas condições climáticas favorecem o implemento de cultivo de peixes de água doce (Pavanelli, Eiras & Takemoto 2008).

A tecnologia de piscicultura em tanques-rede vem sendo amplamente difundida no Brasil, uma vez que possibilita o aproveitamento de recursos aquáticos já existentes e exige menores investimentos quando comparado à piscicultura tradicional, praticada em tanques escavados ou revestidos (Ono & Kubtiza 1999).

O sistema de cultivo de peixes em tanques-rede é caracterizado pela utilização de altas densidades de estocagem, sendo comuns neste tipo de exploração problemas de manejo, má qualidade da água, questões nutricionais, entre outros (Thatcher & Brites-Neto 1994; Kubtiza, 2000). Estes fatores de estresse ambiental podem afetar a homeostasia dos peixes, predispondo-os ao ataque de organismos patogênicos (Pavanelli *et al.* 2008). Esses agentes, em tais condições de estresse, podem desencadear surtos epizooticos graves e dizimar criações inteiras em poucos dias (Onaka 2009). Desta forma, a relevância dos estudos relacionados com parasitas e outros patógenos de organismos aquáticos têm aumentado consideravelmente, principalmente daqueles hospedeiros com potencial para o cultivo e comercialização (Thatcher & Brites-Neto 1994).

Entre as espécies de peixes utilizadas como fonte de economia no Brasil, destaca-se a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1758), cultivada amplamente nas pisciculturas em todo o território nacional (Lizama, Takemoto, Ranzani-Paiva, Ayroza & Pavanelli 2007). No ano de 2009, a produção de tilápias (*O. niloticus* e *Tilapia rendalli* Boulenger 1897) representou 39% do total de pescado proveniente da aquicultura brasileira (Brasil 2010).

Diversas doenças e parasitoses acometem o cultivo de *O. niloticus*, porém destacam-se aquelas causadas por protozoários ciliados, como *Trichodina* spp. Ehrenberg 1830 e *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet 1876, bem como por monogenóides (Kubtiza 2000; Shoemaker, Phillip & Joyce 2000).

Os monogenóides são considerados responsáveis pela parasitose mais importante da piscicultura no Brasil, uma vez que podem provocar altas taxas de mortalidade. A presença destes parasitas nas brânquias dos peixes pode ocasionar hiperplasia celular, hipersecreção de muco e, em alguns casos, fusão de filamentos das lamelas branquiais. Em casos de produção excessiva de muco, pode ocorrer impermeabilização das brânquias, dificultando a respiração e levando os indivíduos a morte (Pavanelli *et al.* 2008).

Nos casos de grandes infestações, os protozoários ciliados podem provocar danos à saúde dos peixes e, conseqüentemente, perdas econômicas nos sistemas de criação. *Trichodina* spp. e *I. multifiliis* ocorrem nas brânquias e superfície do corpo dos peixes, podendo ocasionar hipersecreção de muco e lesões no tegumento e brânquias (Pavanelli *et al.* 2008).

Na literatura, existem vários trabalhos relatando a ocorrência destes parasitas em *O. niloticus*, bem como suas relações com as características limnológicas ou sazonalidade (Tavares-Dias, Martins & Moraes 2001a; Tavares-Dias Martins & Moraes 2001b; Ranzani-Paiva, Felizardo & Luque 2005; Lemos, Rodrigues & Lopes 2006; Lizama *et al.* 2007; Braccini, Vargas, Ribeiro, Filho & Digmayer 2008; Bucur, Costache, Popa & Oprea 2011; Jerônimo, Speck, Cechinel, Gonçalves & Martins 2011). Entretanto, existe uma carência de estudos que relacionem a ocorrência e as taxas de parasitismo com as diferentes fases de criação de *O. niloticus*.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar, do ponto de vista parasitológico, exemplares de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) criadas em tanques-rede no reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, bem como observar suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimentos no campo

As coletas foram realizadas bimestralmente, durante o período de março de 2010 a março de 2011, na Bacia do rio Grande, reservatório de Água Vermelha, na Associação de Piscicultores do município de Mira Estrela (Figura 1), Estado de São Paulo, Brasil (19°55'47.52'' S, 50°08'36.56'' O).

Um total de 63 peixes pertencentes a três fases de criação (21 da fase inicial, 21 da intermediária e 21 da final) foram capturados (Figura 2). A divisão em fases era determinada pelo produtor, de acordo com o tamanho e peso dos peixes.



Figura 1. Unidade de piscicultura em tanques-rede na Bacia do rio Grande, reservatório de Água Vermelha, pertencente à Associação de Piscicultores do município de Mira Estrela, Estado de São Paulo, Brasil.

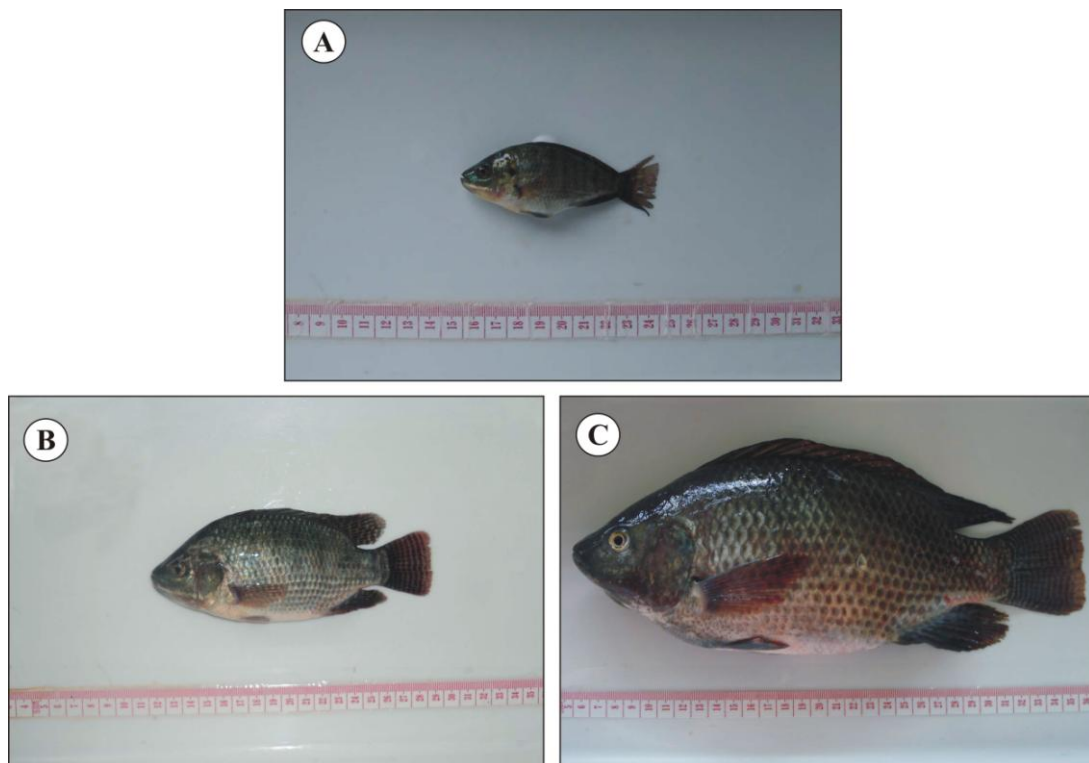


Figura 2. Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. A) Fase inicial, B) Fase intermediária, e C) Fase final.

Imediatamente após a coleta, os peixes foram individualizados em sacos plásticos e mantidos em gelo dentro de caixa térmica para o transporte até o laboratório.

Características de manejo da piscicultura estudada

Na Tabela 1, são apresentadas as características de manejo utilizadas em cada fase de criação na piscicultura avaliada. O ciclo de produção, desde a fase inicial até a final, apresentava duração de aproximadamente quatro meses. De acordo com o proprietário, constantemente era realizado o monitoramento da qualidade da água. A piscicultura não fazia uso de antibióticos (para profilaxia ou tratamento de doenças), sendo que o único método terapêutico utilizado era feito através do uso de sal. Antes da classificação por fases de criação, os peixes eram submetidos a um banho de sal; e também, constantemente uma trouxa de sal era colocada na parte superior de cada tanque-rede.

Tabela 1. Características de manejo adotadas em cada fase de criação para o cultivo de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, município de Mira Estrela, Estado de São Paulo, Brasil.

Características	Fase de criação		
	Inicial	Intermediária	Final
Dimensão dos tanques-rede (m ³)	6	6	6
Densidade por tanque-rede	5000	2000	800
Peso (g)	2 a 150	151 a 400	401 a 800
Alimentação	8 vezes ao dia	5 vezes ao dia	3 vezes ao dia
Tipo de ração	Ração comercial extrusada com 38% de proteína bruta	Ração comercial extrusada com 32% de proteína bruta	Ração comercial extrusada com 32% de proteína bruta

Análise da qualidade da água

No dia de cada coleta, foram avaliadas a temperatura, a transparência e a concentração de oxigênio dissolvido na água com o auxílio de aparelho multissensor de marca “YSY - Mod.50. Posteriormente, uma amostra de 500 mL de água era resfriada para

a análise no laboratório dos seguintes parâmetros: amônia, nitrito e pH, processados com o auxílio de reagentes da marca Alfakit®.

Processamento e análise parasitológica

Os animais foram submetidos à biometria, para anotação do peso e comprimentos padrão e total, sendo posteriormente necropsiados de acordo com técnicas propostas por Eiras, Takemoto & Pavanelli (2006). A análise parasitológica seguiu a metodologia de Eiras *et al.* (2006).

Para a análise qualitativa e quantitativa dos protozoários, foi feita raspagem do muco da superfície corpórea com auxílio de lâmina histológica, sendo este material fixado em álcool 70%. Posteriormente, este material foi analisado em microscópio óptico (aumento de 10x), mediante compressão do conteúdo entre lâmina e lamínula, e retirada do excesso de líquido utilizando-se papel de filtro (modificado de Pavanelli, Eiras & Takemoto 2002).

As brânquias foram coletadas e imediatamente transferidas para um frasco contendo água a 55 °C, sendo o conteúdo agitado para desprendimento dos monogenóides. Os frascos permaneceram em repouso por 1 hora e, após esse período, foi adicionado álcool 93% ao conteúdo. Os monogenóides encontrados foram fixados em álcool 70%. Para estudo das estruturas esclerotizadas (ganchos, âncoras e barras do haptor e complexo copulatório), amostras desses monogenóides foram clarificadas em meio de Hoyer ou Grey & Wess (Kritsky, Thatcher & Boeger 1986).

Para a identificação e diagnóstico dos parasitas, as seguintes referências foram utilizadas: Douëllou (1993) e Pariselle & Euzet (2009) para os monogenóides; e Van As & Basson (1989), Martins & Ghiraldelli (2008) e Pavanelli *et al.* (2008) para os protozoários.

Todos os espécimes de peixe foram fotodocumentados, e fotomicrografias dos parasitas foram obtidas através de sistema computadorizado por análise de imagens “Qwin Lite 3.1, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany”.

Material-tipo e espécimes representativos das espécies de helmintos foram depositados na Coleção Helmintológica do Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências (CHIBB), Universidade Estadual Paulista - UNESP, *campus* de Botucatu, São Paulo, Brasil.

Análise estatística

Os dados de prevalência, abundância média e intensidade média de infecção dos parasitas foram calculados de acordo com Bush, Lafferty, Lotz & Shostak (1997), e os de frequência de dominância e dominância relativa média de acordo com Rohde, Hayward & Heap (1995). A comparação da prevalência dos parasitas em relação às fases de criação e à sazonalidade foi feita utilizando-se o teste de proporção (teste Z). A variação na intensidade de infecção e abundância dos parasitas com relação à sazonalidade foi feita utilizando-se o teste t de Student ou teste U de Mann-Whitney, de acordo com a distribuição dos dados. Com relação às fases de criação, para se verificar a variação na intensidade de infecção e abundância dos parasitas, foi utilizado o teste One Way ANOVA (sendo a diferença entre os grupos determinada pelo teste de Tukey) ou Kruskal-Wallis (H) (sendo a diferença entre os grupos determinada pelo teste de Tukey ou método de Dunn), de acordo com a distribuição dos dados. Para o cálculo do fator de condição (K), foi feita a curva da relação entre peso total (Wt) e o comprimento padrão (Ls) dos espécimes de *O. niloticus*, conforme Le Cren (1951), utilizando-se de um gráfico de dispersão das variáveis (peso e comprimento). A relação Wt/Ls foi ajustada por uma equação exponencial do tipo $Wt = a.Ls^b$, onde a constante *a* (coeficiente linear) indica o bem estar do peixe, e o parâmetro *b* (coeficiente angular) expressa o tipo de crescimento da espécie (Santos 1978; Benedito-Cecílio & Agostinho, 1992; Orsi, Carvalho & Foresti 2002). Com os dados do coeficiente angular, foi calculado o fator de condição individual ($K = Wt/Lt^b$) para cada espécime de peixe. O teste de correlação de Spearman (rs) foi utilizado para observar possíveis correlações entre o fator de condição (K) e a abundância parasitária de acordo com a sazonalidade e fases de criação. Os testes estatísticos foram feitos através do programa SigmaStat 3.1 (Systat Software Inc., California, USA), adotando-se o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Todos os peixes estavam infestados por pelo menos uma espécie de ectoparasita, sendo observada a presença dos seguintes *taxa*: *Trichodina compacta* Van As & Basson 1989, *Trichodina magna* Van As & Basson 1989, *I. multifiliis* e *Epistylis* sp. Iwoffi Fauré-

Fremiet 1943 presentes tanto na superfície corporal, quanto nas brânquias; *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus 1954) Lom 1981, *Cichlidogyrus halli* Price & Kirk 1967, *Cichlidogyrus thurstonae* Ergens 1981, *Cichlidogyrus* sp. 1 Paperna 1960 e *Scutogyrus longicornis* Paperna & Thurston 1969 presentes somente nas brânquias; e *Gyrodactylus* sp. Nordmann 1832, presente somente na superfície corporal (Figuras 3-8).

Os dados biométricos dos peixes e as taxas de parasitismo total em cada fase de criação podem ser observados na Tabela 2. Foi verificado que os peixes das fases intermediária e final apresentaram maiores abundâncias do que aqueles pertencentes à fase inicial ($H = 10,7$, $p = 0,005$).

A variação na prevalência, intensidade média de infecção e abundância média dos parasitas de *O. niloticus* de acordo com a fase de criação estão apresentados na Tabela 3, e de acordo com a sazonalidade na Tabela 4. *Trichodina* spp. apresentaram os maiores valores de prevalência, intensidade média de infecção e abundância média em todas as fases de criação, bem como nos períodos seco e chuvoso. *Trichodina* spp. também apresentaram os maiores valores de frequência de dominância e dominância relativa média entre os parasitas encontrados (Tabela 5).

Os peixes das fases intermediária e final apresentaram as maiores abundâncias de *Trichodina* spp. ($U = 11,5$; $p = 0,003$) e *Cichlidogyrus* sp. 1 ($U = 31,7$; $p < 0,001$), e intensidade de infecção e abundância de *S. longicornis* ($U = 18,8$; $p < 0,001$) quando comparados com aqueles pertencentes à fase inicial.

Os peixes da fase final apresentaram maiores prevalências de *I. multifiliis* ($Z = 2,8$; $p = 0,006$) e *Epistylis* sp. ($Z = 2,2$; $p = 0,026$) do que aqueles pertencentes à fase inicial. Os animais da fase intermediária apresentaram maiores prevalências ($Z = 2,6$; $p = 0,01$) de *S. longicornis*, prevalência ($Z = 2,751$; $p = 0,006$) e abundância ($U = 7,1$; $p = 0,03$) de *C. halli*, e prevalência ($Z = 2,5$; $p = 0,011$), intensidade de infecção ($U = 6,2$; $p = 0,046$) e abundância ($U = 14,8$; $p < 0,001$) de *C. thurstonae* quando comparados com aqueles da fase inicial. A fase final foi a que apresentou maior taxa de prevalência do monogenóide *Cichlidogyrus* sp. 1 ($p > 0,05$).

Os peixes das fases intermediária e final apresentaram maiores valores de abundância total quando comparados com aqueles pertencentes à fase inicial ($H = 10,6$; $p = 0,005$).

Com relação à sazonalidade, foi observado que *Trichodina* spp. ($U = 1010,5$; $p = 0,043$) foi mais abundante no período seco, assim como *Epistylis* sp. ($Z = 2,739$; $p = 0,006$)

foi o mais prevalente. No período chuvoso, foi verificada maior prevalência de *C. halli* ($Z = 2,239$; $p = 0,025$).

Não foi observada correlação entre o fator de condição (K) e a abundância parasitária quanto à sazonalidade ou fases de criação ($p > 0,05$).

Na Tabela 6, podem ser verificados os parâmetros físico-químicos da água mensurados no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. O pH, amônia, amônia tóxica e nitrito apresentaram valores semelhantes durante todo o período de estudo. A transparência da água e os níveis de oxigênio dissolvido apresentaram-se com valores mais baixos durante o mês de novembro de 2010. Com relação à temperatura da água, foram encontrados os menores valores nos meses referentes ao período seco (maio, julho e setembro de 2010).

Tabela 2. Prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI) e abundância média de parasitismo e os dados biométricos observados nas diferentes fases de criação de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, durante o período de março de 2010 a março de 2011.

Fase	Peso (g)	CP* (cm)	P (%)	IMI**	AM**
Inicial	56,4 ± 13,7 (1,4 - 214,3)	10,06 ± 0,9 (4,2 - 17,2)	100	25 ± 5,9 (2 - 108)	25 ± 5,9 (2 - 108)
Intermediária	228,4 ± 27,4 (59,8 - 444,6)	18 ± 0,8 (13 - 23,5)	100	181 ± 94,3 (10-2030)	181 ± 94,3 (10-2030)
Final	590,6 ± 59,6 (205,4-1481,1)	24,2 ± 0,8 (17 - 32)	100	581,2 ± 387,6 (4 - 8199)	581,2 ± 387,6 (4 - 8199)

*CP: comprimento padrão. **Valores apresentados como erro padrão da média (amplitude).

Tabela 3. Prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI) e abundância média (AM) dos parasitas encontrados em cada fase de criação de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, durante o período de março de 2010 a março de 2011.

Parasita	P (%)	IMI*	AM*
Fase Inicial (n = 21)			
<i>Trichodina</i> spp.	76,2	23,88 ± 7,1 (2 - 96)	18,2 ± 5,8 (0 - 96)
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	0	0	0
<i>Epistylis</i> sp.**	19,1	-	-
<i>Piscinoodinium pillulare</i>	4,8	1	0,1 ± 0,1 (0 - 1)
<i>Cichlidogyrus halli</i>	61,9	5,31 ± 1,8 (0,7 - 23,5)	3,3 ± 1,2 (0 - 23,5)
<i>Cichlidogyrus thurstonae</i>	57,1	2,38 ± 0,9 (0,3 - 9,7)	1,4 ± 2,5 (0 - 9,7)
<i>Cichlidogyrus</i> sp. 1	0	0	0
<i>Scutogyrus longicornis</i>	42,9	0,3 ± 0,1 (0,1 - 1)	0,1 ± 0,1 (0 - 1)
<i>Gyrodactylus</i> sp.	33,3	5,7 ± 1,5 (2 - 12)	1,9 ± 0,8 (0 - 12)
Fase Intermediária (n = 21)			
<i>Trichodina</i> spp.	100	159, 3 ± 83 (2 - 1778)	159, 3 ± 83 (2 - 1778)
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	9,5	100 ± 98 (2 - 198)	9,5 ± 9,4 (0 - 198)
<i>Epistylis</i> sp.**	52,4	-	-
<i>Piscinoodinium pillulare</i>	0	0	0
<i>Cichlidogyrus halli</i>	100	4,5 ± 0,7 (0,9 - 13,5)	4,5 ± 0,7 (0,9 - 13,5)
<i>Cichlidogyrus thurstonae</i>	95,2	4,2 ± 0,7 (0,8 - 12,2)	4 ± 0,7 (0 - 12,2)
<i>Cichlidogyrus</i> sp. 1	0	0	0
<i>Scutogyrus longicornis</i>	85,7	1,6 ± 0,4 (0,3 - 6)	1,4 ± 0,3 (0 - 6)
<i>Gyrodactylus</i> sp.	33,3	7 ± 3 (1 - 24)	2,3 ± 1,2 (0 - 24)
Fase Final (n = 21)			
<i>Trichodina</i> spp.	90,5	603 ± 405,3 (2 - 7768)	545,5 ± 367,9 (0 - 7768)
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	38,1	51,1 ± 1 (2 - 10)	1,9 ± 0,7 (0 - 10)
<i>Epistylis</i> sp.**	57,14	-	-
<i>Piscinoodinium pillulare</i>	0	0	0
<i>Cichlidogyrus halli</i>	90,5	8 ± 2,6 (0,6 - 45,5)	7,2 ± 2,4 (0 - 45,5)
<i>Cichlidogyrus thurstonae</i>	85,7	4,7 ± 1,6 (0,3 - 25,5)	4,5 ± 1,4 (0 - 25,5)
<i>Cichlidogyrus</i> sp. 1	61,9	0,2 ± 0,1 (0,01 - 1)	0,1 ± 0,1 (0 - 1)
<i>Scutogyrus longicornis</i>	76,2	1,7 ± 0,5 (0,1 - 8,2)	1,3 ± 0,4 (0 - 8,2)
<i>Gyrodactylus</i> sp.	47,6	44,2 ± 38,3 (1 - 388)	21,1 ± 18,4 (0 - 388)
Total	100	263,2 ± 134,2 (2 - 8199)	263,2 ± 134,2 (2 - 8199)

*Valores apresentados como erro padrão da média (amplitude). **Por se tratar de um protozoário colonial, os cálculos de intensidade média de infecção e abundância média não foram realizados.

Tabela 4. Prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI) e abundância média (AM) de acordo com a sazonalidade dos parasitas encontrados em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, durante o período de março de 2010 a março de 2011.

Parasitas	Período seco (n=27)			Período chuvoso (n=36)		
	P (%)	IMI*	AM*	P (%)	IMI*	AM*
<i>Trichodina</i> spp.	96,3	472,8 ± 302,5 (4-7768)	455,3 ± 291,6 (4-7768)	83,3	96,4 ± 33,8 (2-926)	80,3 ± 28,8 (0-926)
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	28,6	37,7 ± 32,1 (2-198)	8,4 ± 7,3 (0-198)	11,1	3,8 ± 1,2 (2-7)	0,4 ± 0,2 (0-7)
<i>Epistylis</i> sp.**	71,4	-	-	33,3	-	-
<i>Piscinoodinium pillulare</i>	11,1	1	0,1 ± 0,1 (0-1)	0	0	0
<i>Cichlidogyrus halli</i>	70,4	5,1 ± 1,2 (0,7 - 18,75)	3,6 ± 0,9 (0 - 18,75)	94,4	6,4 ± 1,6 (0,6 - 45,5)	6,1 ± 1,5 (0 - 45,5)
<i>Cichlidogyrus thurstonae</i>	90,5	3,7 ± 0,8 (0,3 - 12,17)	2,6 ± 0,7 (0 - 12,17)	86,1	4,1 ± 1 (0,32 - 24,5)	3,5 ± 0,9 (0 - 24,46)
<i>Cichlidogyrus</i> sp. 1	18,5	0,4 ± 0,2 (0,03 - 1)	0,1 ± 0,04 (0 - 1)	22,2	0,2 ± 0,1 (0,01 - 0,91)	0,04 ± 0,03 (0 - 0,91)
<i>Scutogyrus longicornis</i>	59,3	1,7 ± 0,4 (0,02 - 6)	1 ± 0,3 (0 - 6)	75	1,2 ± 1,6 (0,05 - 8,2)	0,9 ± 0,3 (0 - 8,2)
<i>Gyrodactylus</i> sp.	48,2	36,3 ± 29,4 (2 - 388)	17,5 ± 14,3 (0 - 388)	30,6	5,4 ± 1,6 (1-18)	1,6 ± 0,6 (0-18)
Total	100	506,1 ± 322,4 (0-8166)	506,1 ± 322,4 (0-8166)	100	94, 2 ± 30,1 (2-943)	94,2 ± 30,1 (2-943)

*Valores apresentados como erro padrão da média (amplitude). ** Por se tratar de um protozoário colonial, os cálculos de intensidade média de infecção e abundância média não foram realizados.

Tabela 5. Frequência de dominância e dominância relativa média dos parasitas encontrados em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, durante o período de março de 2010 a março de 2011.

Parasitas	Frequência de dominância	Dominância relativa média
<i>Trichodina</i> spp.	45	0,6 ± 0,3
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	0	0,01 ± 0,02
<i>Cichlidogyrus halli</i>	14	0,2 ± 0,3
<i>Cichlidogyrus thurstonae</i>	4	0,11 ± 0,2
<i>Cichlidogyrus</i> sp. 1	0	0,001 ± 0,1
<i>Scutogyrus longicornis</i>	0	0,03 ± 0,1
<i>Gyrodactylus</i> sp.	0	0,04 ± 0,1

Tabela 6. Parâmetros físico-químicos da água mensurados no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, próximo à Unidade de piscicultura em tanques-rede de Mira Estrela, Estado de São Paulo, Brasil, durante o período de março de 2010 a março de 2011.

Parâmetros	Meses de coleta						
	Mar/10	Mai/10	Jul/10	Set/10	Nov/10	Jan/11	Mar/11
O ₂ D ¹	6,6	6,7	6,3	7,6	3,9	6,2	5,2
Tr ²	2	> 2	> 1,5	1,45	0,98	>1,5	> 1,5
pH	7	7	7	6,75	6,5	7,5	7
T ³	29,3	24,5	22,9	23,6	28,6	30,8	28,6
Am ⁴	0,1	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1
At ⁵	9 x 10 ⁻⁴	0	0	6 x 10 ⁻⁴	2,3 x 10 ⁻⁴	2,3 x 10 ⁻⁴	9 x 10 ⁻⁴
Nt ⁶	0,1	0,03	0	0	0,03	0,1	0,03

¹Oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹); ²Transparência (m); ³Temperatura (°C); ⁴Amônia (mg.L⁻¹); ⁵Amônia tóxica (mg.L⁻¹); ⁶Nitrito (mg.L⁻¹).

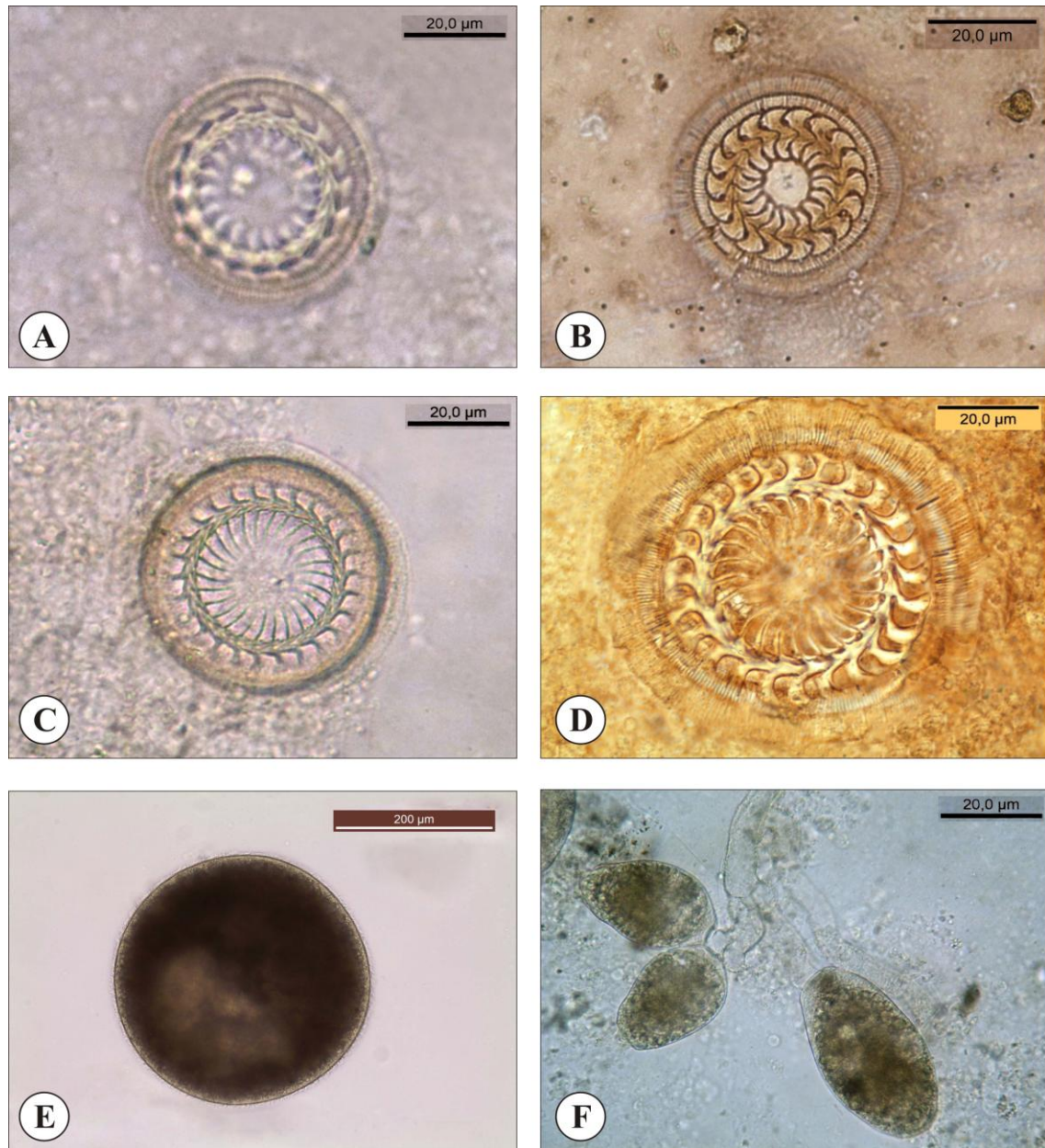


Figura 3. Protozoários encontrados em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. A) *Trichodina compacta*; B) *Trichodina compacta* corado com nitrato de prata; C) *Trichodina magna*; D) *Trichodina magna* corado com nitrato de prata, E) *Ichthyophthirius multifiliis*; F) *Epistylis* sp.

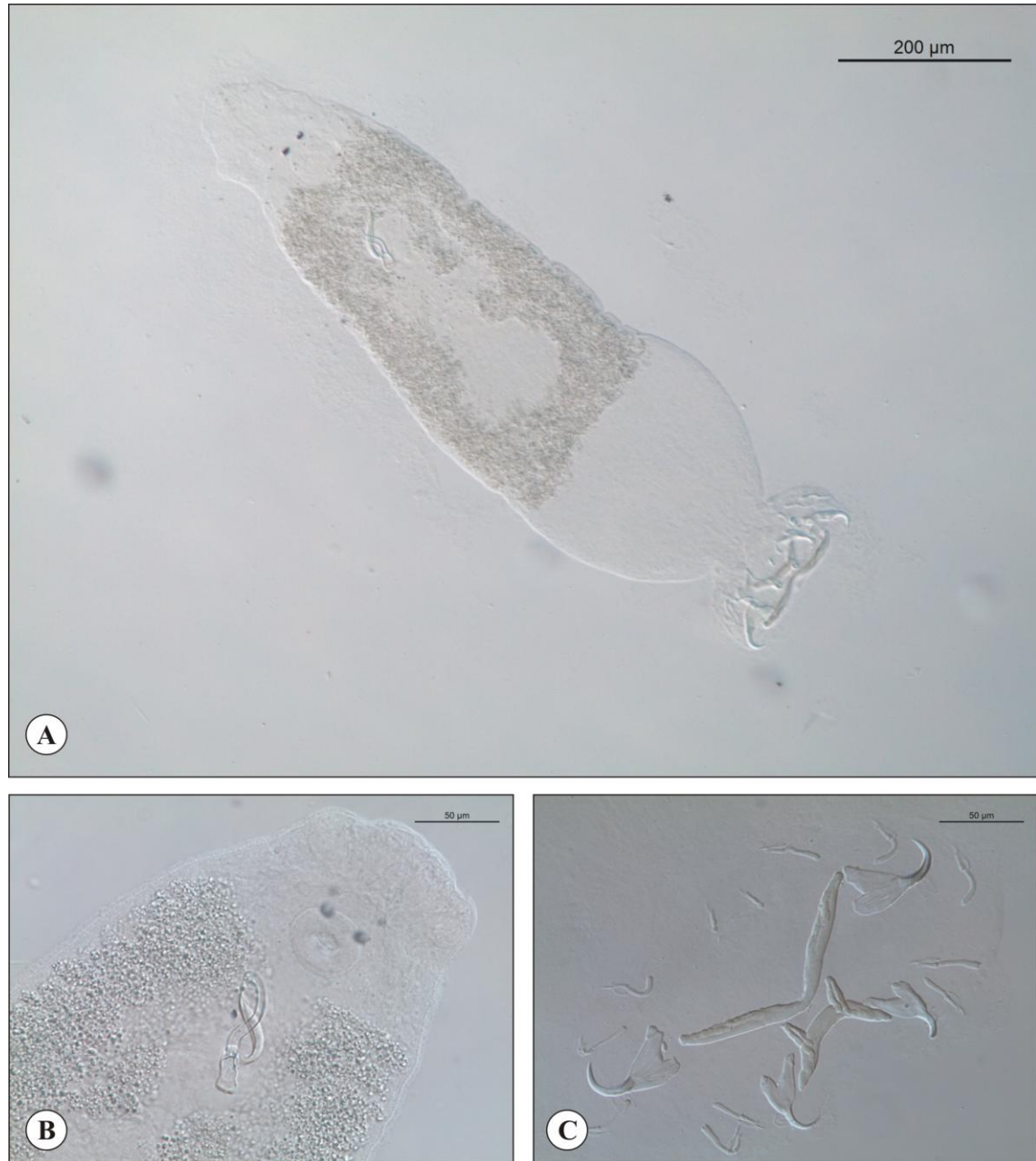


Figura 4. *Cichlidogyrus halli* encontrado em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), proveniente de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. A) vista total, B) região anterior, C) haptor.

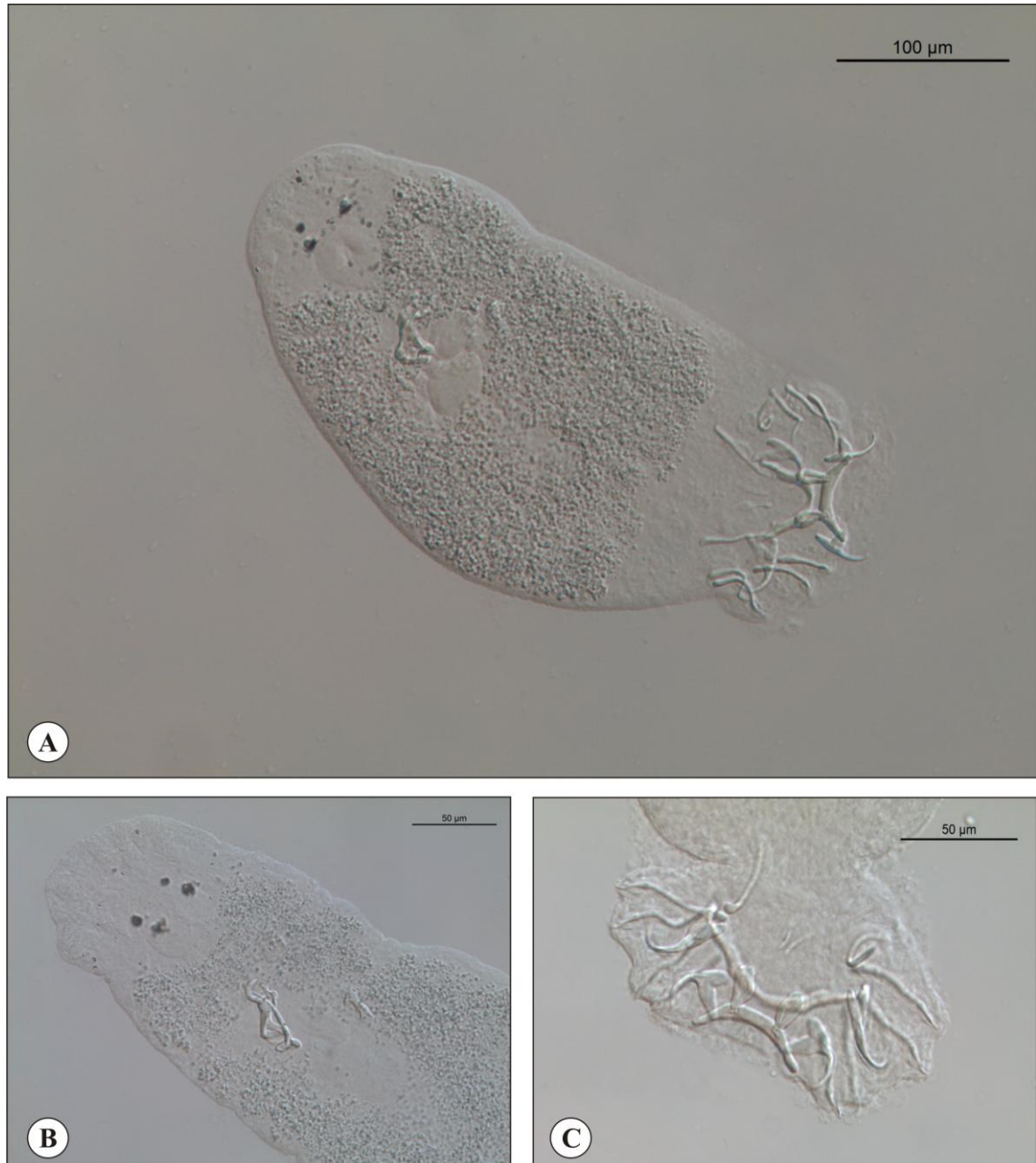


Figura 5. *Cichlidogyrus thurstonae* encontrado em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), proveniente de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. A) vista total, B) região anterior, C) haptor.



Figura 6. *Cichlidogyrus* sp. 1 encontrado em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), proveniente de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. A) vista total, B) região anterior, C) haptor.

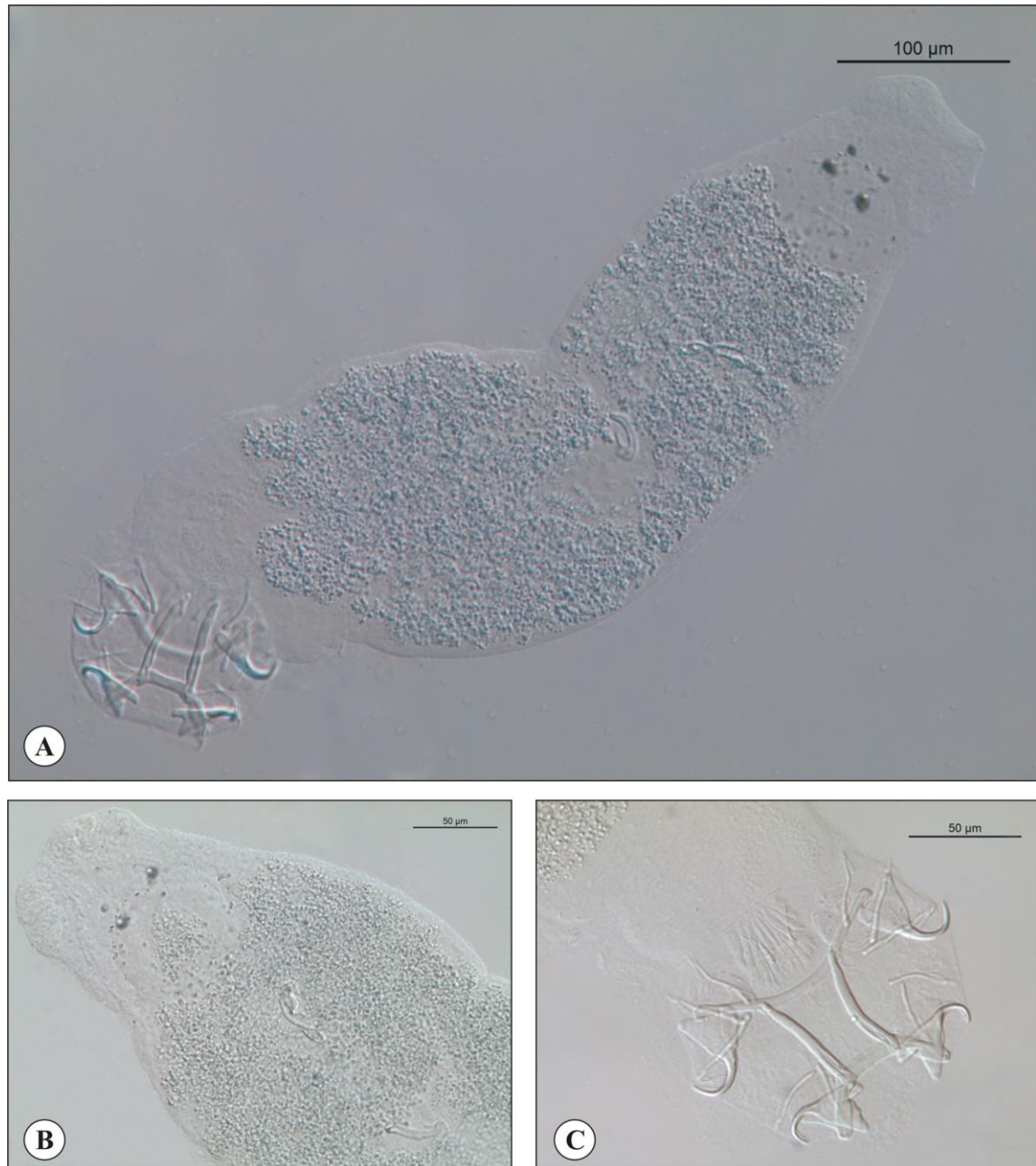


Figura 7. *Scutogyrus longicornis* encontrado em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), proveniente de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. A) vista total, B) região anterior, C) haptor.

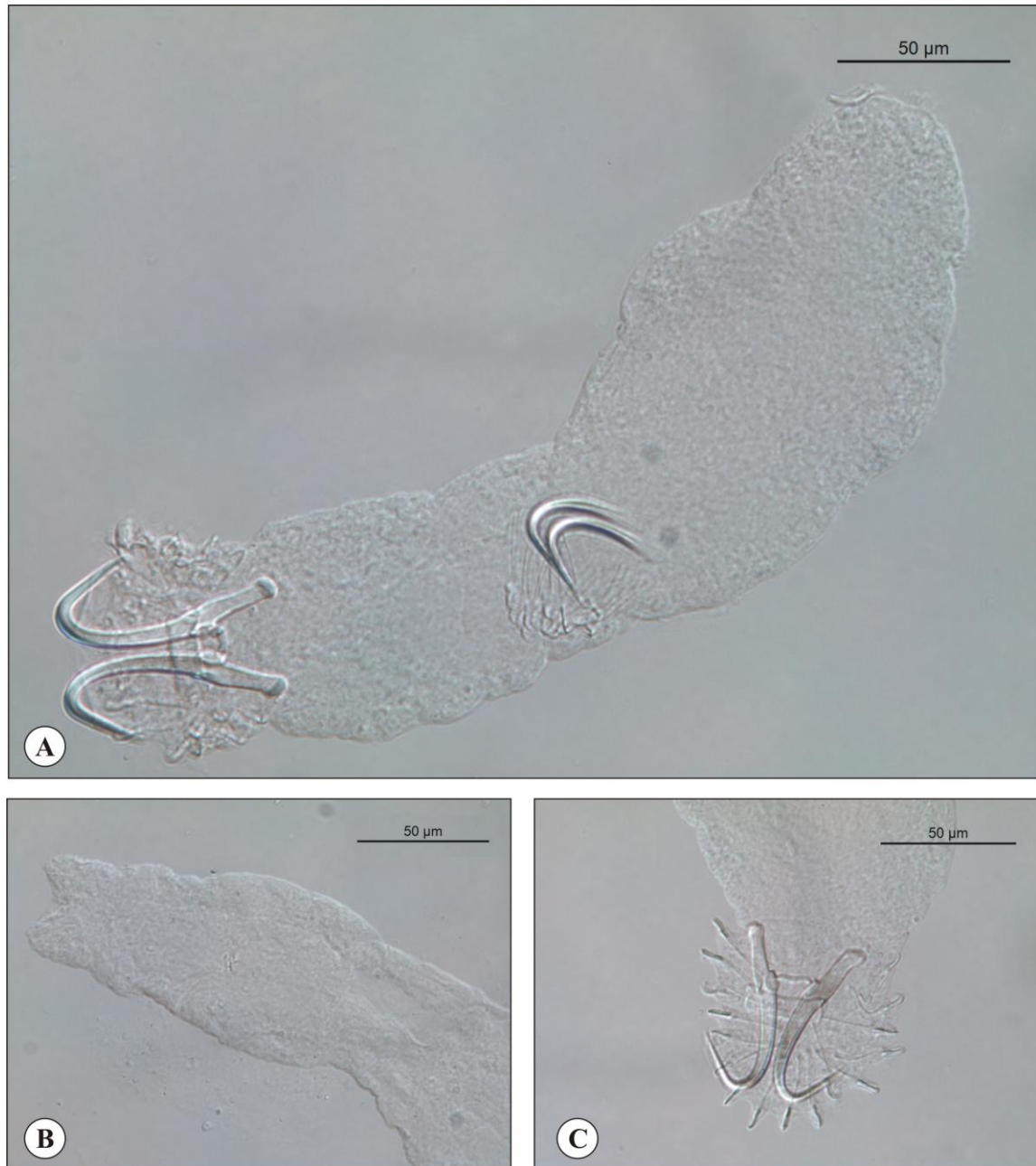


Figura 8. *Gyrodactylus* sp. encontrado em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), proveniente de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. A) vista total, B) região anterior, C) haptor.

DISCUSSÃO

No presente estudo, foi observada a presença de quatro espécies e um gênero de protozoário, bem como três espécies e dois gêneros de monogenóides em tilápias do Nilo (*O. niloticus*) criadas em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. Os ectoparasitas encontrados neste estudo são comumente observados em *O. niloticus*, tendo sido relatados em diversos trabalhos e sob o regime de diferentes sistemas de cultivo (Vargas *et al.* 2000; Tavares-Dias *et al.* 2001a; Tavares-Dias *et al.* 2001b; Martins, Moraes, Andrade, Schalch & Moraes 2001; Ranzani-Paiva *et al.* 2005; Ghiraldelli, Martins, Jerônimo, Yamashita & Adamante 2006; Lemos *et al.* 2006; Braccini *et al.* 2008; Bucur *et al.* 2011; Jerônimo *et al.* 2011).

Os tricodinídeos são parasitas de grande significância na produção comercial de tilápias e estão presentes em quase todos os ambientes de cultivo (Kubtiza, 2000). No presente estudo, *Trichodina* spp. apresentaram os maiores valores de frequência de dominância e dominância relativa média, bem como as maiores taxas de parasitismo em todas as fases de criação e períodos do ano. Ghiraldelli *et al.* (2006), estudando os ectoparasitas de *O. niloticus* cultivadas em três regiões do Estado de Santa Catarina, Brasil, encontraram resultados semelhantes, nos quais os tricodinídeos constituíram o grupo de parasitas mais numerosos e dominantes. Da mesma forma, Ranzani-Paiva *et al.* (2005) observaram as maiores taxas de infestação por protozoários do gênero *Trichodina* spp. em *O. niloticus* provenientes da represa de Guarapiranga, Estado de São Paulo, Brasil.

De acordo com Kubtiza (2000) e Pavanelli *et al.* (2008), a susceptibilidade das tilápias as parasitoses e doenças depende de diversos fatores, como: as condições de qualidade da água e a carga orgânica nas unidades de produção, o estado de nutrição dos peixes, e particularmente, as condições de qualidade da água. A análise dos parâmetros físico-químicos da água revelou que a maioria dos valores encontrados estava de acordo com as condições adequadas para o cultivo de *O. niloticus*, exceto a temperatura, que nos meses referentes a estação seca apresentou valores abaixo do recomendado para a espécie, que varia entre 27 a 32 °C (Kubtiza, 2000). De acordo com Kubtiza (2000), temperaturas abaixo de 27 °C reduzem o apetite e o crescimento, além de suprimirem o sistema imunológico, predispondo os peixes ao ataque de organismos patogênicos. No período

seco, foram observados maiores abundâncias de *Trichodina* spp. e prevalência de *Epistylis* sp.

Durante o período chuvoso, apenas a prevalência de *C. halli* foi maior quando comparada com o período seco. Entretanto, a intensidade média de infecção e a abundância média de *C. halli* e dos demais monogenóides observados neste estudo, apresentaram valores baixos nos dois períodos estudados. Resultado semelhante foi observado por Ranzani-Paiva *et al.* (2005) estudando *O. niloticus* provenientes da represa de Guarapiranga, Estado de São Paulo, Brasil. Neste estudo, Ranzani-Paiva *et al.* (2005) verificaram que *Cichlidogyrus* sp. ocorreu em uma baixa intensidade média, e as maiores prevalências foram constatadas nos meses correspondentes ao período chuvoso (outubro, novembro e dezembro). Da mesma forma, Zica (2008) estudando *O. niloticus* cultivadas em tanques-rede no reservatório de Chavantes, Estado de São Paulo, Brasil, constatou que a prevalência por monogenóides foi elevada, principalmente no período chuvoso, porém a intensidade de infecção e abundância foram baixas em todos os períodos do ano.

De acordo com Eiras (1993), a maioria das espécies de monogenóides tem um padrão anual de infecção bem definido, com o aumento do número de parasitas em temperaturas mais elevadas (verão) e uma diminuição em temperaturas mais baixas (inverno). Os resultados obtidos no presente estudo com relação à sazonalidade corroboram com os achados de Jerônimo *et al.* (2011). Neste trabalho, Jerônimo *et al.* (2011) observaram em *O. niloticus* cultivada em três regiões do Estado de Santa Catarina, Brasil, maiores infestações por protozoários nos meses com temperaturas mais baixas (outono e inverno), e um aumento nas taxas de parasitismo por monogenóides nos meses que apresentaram temperaturas mais elevadas (primavera e verão).

Com relação às fases de criação, foi verificado que para a maioria dos ectoparasitas encontrados, os peixes pertencentes às fases intermediária e final apresentaram maiores taxas de parasitismo do que aqueles da fase inicial. Conforme relatado por Zuben (1997), o tamanho do corpo do hospedeiro é o fator mais correlacionado com o número de espécies de parasitas. Hospedeiros maiores podem oferecer mais espaço para os parasitas, e assim abrigar mais espécies. Desta forma, uma maior variedade de nichos é disponibilizada para

ocupação, permitindo assim a ocorrência simultânea de mais espécies de parasitas (Poulin 1995).

Estudos comparando as taxas de parasitismo nas diferentes fases de criação de *O. niloticus* são escassos, sendo mais frequentes aqueles relacionados à ocorrência de parasitismo em apenas uma fase, principalmente a de alevino.

O único relato presente na literatura comparando fases de criação foi executado por Vargas *et al.* (2000), que estudaram *O. niloticus* criadas em tanques escavados em um "pesque-pague" de Umuarama, Estado do Paraná, Brasil. Vargas *et al.* (2000) compararam as taxas de parasitismo em peixes nas fases de alevino ($2,6 \pm 1,8$ cm e $0,4$ g) e reprodutores (machos: $29,1 \pm 1,3$ cm e $449,3 \pm 49,7$ g; fêmeas: $25,1 \pm 5,8$ cm e $347,8 \pm 189$ g). Foi observado que a prevalência total de ectoparasitas em peixes na fase de alevino foi de 87%, com maior ocorrência de *Trichodina* sp. (36%), seguida de monogenóides (15%). Nos reprodutores, foi identificada uma prevalência de 31%, sendo observada uma maior ocorrência de monogenóides (14%), seguida de *Trichodina* sp. (12%).

Leonardo, Pereira & Krajevieski (2006) conduziram um estudo na região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil, no qual observaram a ocorrência mensal e sazonalidade dos ectoparasitas em alevinos de *O. niloticus* após a reversão sexual. Os exames parasitológicos demonstraram a ocorrência de 100% de ectoparasitismo em todos os lotes de peixes avaliados mensalmente. Do total de peixes coletados, 73,6% estavam parasitados por *Trichodina* sp., 19,1% por *Dactylogyrus* sp., 11,8% por *I. multifiliis*, e 0,1% por *Chilodonella* sp., sendo que as maiores ocorrências aconteceram em meses mais frios.

No presente estudo, não foi observada correlação estatística significativa entre o fator de condição e a abundância parasitária dos peixes, tanto com relação às fases de criação quanto com a sazonalidade. Tal resultado sugere que, apesar de os peixes terem sido mais parasitados nas fases intermediária e final, e também no período seco, essas taxas de parasitismo não foram suficientes para afetar o estado fisiológico, a sanidade, e o bem-estar dos peixes.

Através dos resultados obtidos, pode-se constatar a ocorrência no reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, das principais parasitoses que acometem o

cultivo de *O. niloticus*, e que as características limnológicas e fase de criação influenciam na ocorrência desses organismos. Além disso, todos os parasitas encontrados estão sendo registrados pela primeira vez no reservatório estudado.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Processo n° 577649/2008-6), a CAPES e à FAPESP (Processo n° 2010/01424-0) pelo auxílio financeiro durante a realização da pesquisa. Ao Sr. Luís Borges, proprietário da Unidade de piscicultura em tanques-rede de Mira Estrela, Estado de São Paulo, Brasil, pela doação dos peixes. Aos amigos do Instituto de Pesca de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, Brasil, biólogo Pedro Guilherme Panin Candeira, MSc Fernando Stopato da Fonseca e Dr. Eduardo Makoto Onaka pelo auxílio durante as coletas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benedito-Cecílio, E. & Agostinho, A. A. (1997) Estrutura de populações de peixes do reservatório de Segredo. In: Agostinho, A. A. & Gomes L. C. (Edit.). *Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo*, pp.113-119. Eduem, Maringá.
- Braccini, G. L., Vargas, L., Ribeiro, R. P., Filho, L. A. & Digmayer, M. (2008) Ectoparasitos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivados em tanques-rede nos rios do Corvo e Guairacá, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **17**, 24-29.
- Brasil. Ministério da Pesca e Aquicultura (2010) *Boletim estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2008-2009*. pp. 99. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/docs/anu%20do%20rio%20da%20pesca%20completo2.pdf>> Acesso em: 20 dez. 2011.
- Bucur, C., Costache, M., Popa, V. & Oprea, D. (2011) Contributions to the knowledge of parasite fauna on *Oreochromis niloticus* species reared in flow-through installations and earthen ponds. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies* **68**, 98-103.

- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M. & Shostak, A. W. (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology* **83**, 575-583.
- Douëllou, L. (1993) Monogeneans of the genus *Cichlidogyrus* Paperna, 1960 (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae) from cichlid fishes of the Lake Kariba (Zimbabwe) with descriptions of five new species. *Sistematic Parasitology* **25**, 159-186.
- Eiras, J. C. (1993) *Elementos de ictioparasitologia*, pp.339. Fundação Engenheiro Antônio de Almeida Porto.
- Eiras, J. C., Takemoto, R. M. & Pavanelli, G. C. (2006) *Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes*, pp.199. 2nd edn. Eduem, Maringá.
- Ghiraldelli, L., Martins, M. L., Jerônimo, G. T., Yamashita, M. M. & Adamante, W. B. (2006) Ectoparasites communities from *Oreochromis niloticus* cultivated in the State of Santa Catarina, Brazil. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **2**, 181-190.
- Jerônimo, G. T., Speck, G. M., Cechinel, M. M., Gonçalves, E. L. T. & Martins, M. L. (2011) Seasonal variation on the ectoparasitic communities of Nile tilapia cultured in three regions in southern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **71**, 365-373.
- Krisky, D. C., Thatcher, V. E & Boeger, V. A. (1986) Neotropical Monogenea. Revision of *Urocleidoides* (Dactylogyridae, Ancyrocephalinae). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* **53**, 1-37.
- Kubitza, F. (2000) *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. pp. 289. F. Kubitza; Jundiaí.
- Le Cren, E. D. (1951) The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology* **20**, 201-219.
- Lemos, J. B., Rodrigues, M. E. B. & Lopes, J. P. (2006) Diagnóstico de ectoparasitas e bactérias em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas na região de Paulo Afonso, Bahia. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca* **1**, 75-90.

- Leonardo, J. M. L. O., Pereira, J. V. & Krajevieski, M. E. (2006) Ocorrência de ectoparasitas e estacionalidade em alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) após a reversão sexual, na região noroeste do Paraná. *Iniciação Científica CESUMAR* **8**, 185-191.
- Lizama, M. A. P., Takemoto, R. M., Ranzani-Paiva, M. J. T., Ayroza, L. M. S. & Pavanelli, G. C. (2007) Relação parasito-hospedeiro em peixes de pisciculturas da região de Assis, Estado de São Paulo, Brasil. 1. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). *Acta Scientiarum Biological Sciences* **29**, 223-231.
- Martins, M. L. & Ghiraldelli, L. (2008) *Trichodina magna* Van As and Basson, 1989 (Ciliophora: Peritrichia) from cultured Nile tilapia in the state of Santa Catarina, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **68**, 169-172.
- Martins, M. L., Moraes, J. R. E., Andrade, P. M., Schalch, S. H. C. & Moraes, F. R. (2001) *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus, 1954) Lom, 1981 (Dinoflagellida) infection in cultivated freshwater fish from the Northeast region of São Paulo State, Brazil. Parasitological and pathological aspects. *Brazilian Journal of Biology* **61**, 639-644.
- Onaka, E. M. Acompanhamento do estado parasitológico de peixes mantidos em tanques-rede e em ambiente natural nos reservatórios de Nova Avanhandava e Ilha Solteira (SP). In: Castellani, D. (Ed.) I Workshop de Piscicultura do Noroeste Paulista, Votuporanga, SP, Brasil, 2009.
- Ono, E. A. & Kubitza, F. (1999) *Cultivo de peixes em tanques-rede*. 68 pp. Kubitza; Jundiaí.
- Orsi, M.L., Carvalho, E.D. & Foresti, F. (2004) Biologia populacional de *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (Teleostei, Characidae) do médio Rio Paranapanema, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* **21**, 207-218.
- Pariselle, A. & Euzet, L. (2009) Systematic revision of dactylogyridean parasites (Monogenea) from cichlid fishes in Africa, the Levant and Madagascar. *Zoosystema* **31**, 849-898.
- Pavanelli, G. C., Eiras, J. C. & Takemoto, R. M. (2002) *Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*, pp.305. 2nd edn. Eduem, Maringá.

- Pavanelli, G. C., Eiras, J. C. & Takemoto, R. M. (2008) *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*, pp. 311. 3rd. edn. Eduem, Maringá.
- Poulin, R. (1995) Phylogeny, ecology, and the richness of parasite communities in vertebrates. *Ecological Monographs* **65**, 283-302.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., Felizardo, N. N & Luque, J. L. (2005) Parasitological and hematological analysis of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757 from Guarapiranga reservoir, São Paulo State, Brazil. *Acta Scientiarum Biological Sciences* **27**, 231-237.
- Rohde, K., Hayward, C. & Heap, M. (1995) Aspects of the ecology of metazoan ectoparasites of marine fishes. *International Journal for Parasitology* **25**, 945-970.
- Santos, E. P. (1978) *Dinâmica de populações aplicada à pesca e piscicultura*, pp. 129. EDUSP, São Paulo.
- Shoemaker, C. A., Phillip, K. & Joyce, E. (2000) Diseases of tilapia with emphasis on economically important pathogens. In: 5th International Symposium on Tilapia Aquaculture, 2000, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 565-572.
- Tavares-Dias, M, Martins, M. L. & Moraes, F. R. (2001a) Fauna parasitária de peixes oriundos de "pesque-pague" do município de Franca, São Paulo, Brasil. I. Protozoários. *Revista Brasileira de Zoologia* **18**, 67-79.
- Tavares-Dias, M, Martins, M. L. & Moraes, F. R. (2001b) Fauna parasitária de peixes oriundos de "pesque-pague" do município de Franca, São Paulo, Brasil. II. Metazoários. *Revista Brasileira de Zoologia* **18**, 81-95.
- Thatcher, V. E. & Brites-Neto, J. (1994) Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, Rio de Janeiro **16**, 111-128.
- Van As, J. G. & Basson, L. (1989) A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichia) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids. *Systematic Parasitology* **14**, 157-179.

- Vargas, L., Povh, J. A., Ribeiro, R. P. & Moreira, H. L. M. (2000) Ocorrência de ectoparasitos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), de origem tailandesa, em Maringá - Paraná. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR* **3**, 31-37.
- Zica, E. O. P. (2008) Análise parasitológica de peixes em sistemas de tilapicultura em tanques-redes e suas inter-relações com a ictiofauna residente e agregada. Master dissertation, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista - *Campus* de Botucatu, Botucatu, SP, Brazil. Available in: <http://www.ibb.unesp.br/posgrad/teses/bga_me_2008_erica_zica.pdf>
- Zuben, C. J. V. (1997) Implicações da agregação espacial de parasitas para a dinâmica populacional na interação hospedeiro-parasita. *Revista de Saúde Pública* **31**, 523-530.

Artigo 2

Bactérias isoladas de tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus) provenientes de cultivo em tanques-rede e suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação

Artigo preparado segundo as normas da revista "Brazilian Journal of Microbiology"

RESUMO

As bactérias apresentam grande importância na piscicultura intensiva, podendo ocasionar impactos econômicos consideráveis devido às doenças que provocam. Nesse sistema de cultivo, os peixes ficam susceptíveis ao ataque de organismos patogênicos, uma vez que são submetidos a um estresse crônico, resultante da alta densidade, da manipulação inerente ao cultivo, e da degradação da qualidade da água. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo realizar análise microbiológica de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) criadas em tanques-rede no reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, bem como observar suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação. Durante o período de março de 2010 a março de 2011, foram coletados 63 peixes, pertencentes a três fases de criação (inicial, intermediária e final). Os animais foram examinados externamente, a procura de sinais característicos de bacterioses. Amostras do rim cefálico e cérebro dos peixes foram coletadas e semeadas em meios de cultura artificiais. A susceptibilidade dos isolados a antimicrobianos foi determinada pela técnica de difusão em disco em ágar Mueller-Hinton. Foi observada a presença de nove espécies e seis gêneros de bactérias. Verificou-se que 42,9% dos peixes estavam infectados por pelo menos um *taxon*, sendo que o gênero *Pseudomonas* foi o mais prevalente. Não foram observadas diferenças na prevalência das bactérias com relação às fases de criação ou sazonalidade. Entre as bactérias submetidas ao teste do antibiograma, foi verificada sensibilidade a apenas dois dos antibióticos testados.

Palavras-chave: piscicultura, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Flavobacterium columnare*.

ABSTRACT

In intensive fish farming, bacteriosis have a great importance because they can cause considerable economic impact. In this culture system, fish are susceptible to attack by pathogens, because they are submitted to chronic stress, resulting from high density, the manipulation inherent in the cultivation and low water quality. Thus, this study aimed to perform a microbiological analysis of tilapia do Nilo (*O. niloticus*) cultivated in fish cages from Água Vermelha Reservoir, São Paulo State, Brazil, as well as observe their interrelations with limnological and fish production phase. From March 2010 to March 2011 were collected 63 specimens belonging to three fish production phases (initial, intermediate and final). Fish were externally examined for characteristic signs of bacteriosis. Samples of head kidney and brain of fish were collected and grown in artificial culture medium. Antimicrobial susceptibility of bacteria isolates was determined by disk diffusion technique on Mueller-Hinton agar. It was observed the presence of nine species and six genus of bacteria. It was verified that 42.9% of fish were infected by at least one *taxon*, and the genus *Pseudomonas* was the most prevalent. Neither fish production phase nor seasonality was statistically different in relation to prevalence of bacteria. It was observed susceptibility only for two antibiotics tested among bacteria submitted to antibiogram test.

Keywords: fish farming, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp. *Flavobacterium columnare*.

INTRODUÇÃO

O Brasil reúne condições extremamente favoráveis para a aquicultura, principalmente devido ao seu grande potencial hídrico. São mais de 8.000 km de zona costeira e cinco milhões de hectares de água doce em reservatórios naturais e artificiais, os quais podem ser aproveitados para a produção de organismos aquáticos (13, 22).

O cultivo de peixes em tanques-rede é uma alternativa de investimento com menores custos e maior rapidez de implantação, uma vez que possibilita o aproveitamento de recursos hídricos já existentes (13). Este sistema de cultivo é caracterizado pela utilização de altas densidades de estocagem, sendo comuns neste tipo de exploração problemas relacionados com a sanidade dos peixes. Nesse regime de confinamento, os peixes ficam mais susceptíveis ao ataque de organismos patogênicos, uma vez que são submetidos a um estresse crônico, resultante da alta densidade, da manipulação inerente ao cultivo, e da degradação da qualidade da água (22).

As bactérias constituem-se de importantes patógenos na piscicultura intensiva, devido a sua facilidade de disseminação e por apresentarem um caráter oportunista (14, 22). Embora existam inúmeras bactérias patogênicas, algumas delas são de ocorrência frequente e apresentam maior impacto econômico na produção comercial de peixes cultivados, como: *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp. e *Flavobacterium columnare* (15).

No Brasil, alguns estudos relatam a ocorrência destas bactérias em peixes provenientes de sistemas de criação. Entretanto, são escassos os trabalhos que comparem as taxas de infecção por bactérias nas diferentes fases de criação de peixes cultivados ou relacionem a ocorrência destes organismos com as variáveis limnológicas ou sazonalidade.

Pilarski *et al.* (23) isolaram *F. columnare* de quatro espécies de peixes tropicais do Brasil: piracanjuba (*Brycon orbignyanus*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e cascudo (*Hypostomus plecostomus*). Todas as espécies de peixes examinadas apresentaram sinais característicos de columnariose, como manchas acinzentadas na cabeça, na região dorsal e no pedúnculo caudal.

Lemos *et al.* (16) relatou a ocorrência de *Streptococcus agalactiae* e *Aeromonas hydrophila* em alevinos de *O. niloticus* provenientes de duas pisciculturas intensivas na região de Paulo Afonso, Estado da Bahia, Brasil.

A diversidade de espécies de *Aeromonas*, isoladas de *O. niloticus* provenientes de pisciculturas na região do Alto Rio Grande, Minas Gerais, Brasil, e seu perfil de susceptibilidade a antimicrobianos foi verificada em um estudo conduzido por Hirsch *et al.* (10). Foram encontradas nove espécies de bactérias pertencentes ao gênero *Aeromonas*: *A. jandaei*, *A. hydrophila*, *A. trota*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. eucrenophila*, *A. veronii* bt *veronii*, *A. schubertii*, *A. media*, além de amostras classificadas como *Aeromonas* atípicas. Dentre os isolados analisados, 43% apresentaram índice de múltipla resistência a antimicrobianos (MAR) igual ou superior a 22%, ou seja, resistência a duas ou mais drogas das nove testadas.

O presente trabalho teve como objetivo realizar análise microbiológica de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) criadas em tanques-rede no reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, bem como observar suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de criação.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimentos no campo

As coletas foram realizadas bimestralmente, durante o período de março de 2010 a março de 2011, na Bacia do rio Grande, reservatório de Água Vermelha, na Associação de Piscicultores do município de Mira Estrela (Figura 1), Estado de São Paulo, Brasil (19°55'47.52'' S, 50°08'36.56'' O).

Um total de 63 peixes pertencentes a três fases de criação (21 da fase inicial, 21 da intermediária e 21 da final) foram coletados (Figura 2). A divisão dos peixes em fases era determinada pelo produtor, de acordo com o tamanho e peso dos peixes.

Imediatamente após a coleta, os peixes foram individualizados em sacos plásticos e mantidos em gelo dentro de caixa térmica para o transporte até o laboratório.



Figura 1. Unidade de piscicultura em tanques-rede na Bacia do rio Grande, reservatório de Água Vermelha, pertencente à Associação de Piscicultores do município de Mira Estrela, Estado de São Paulo, Brasil.

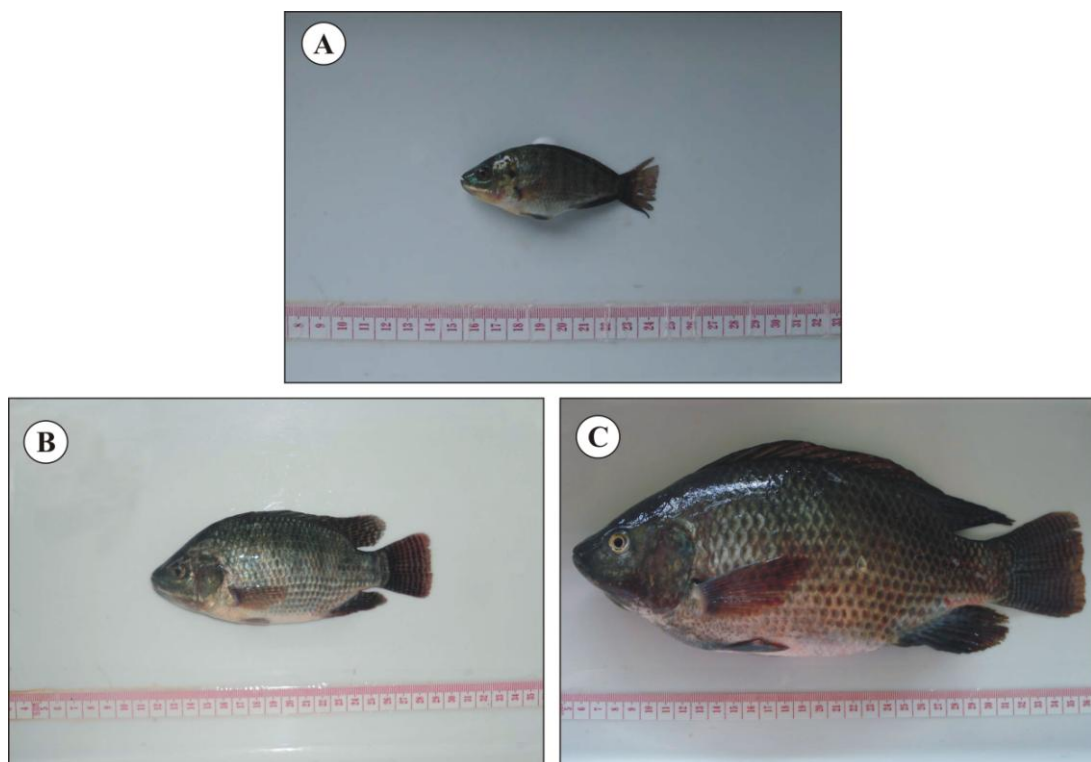


Figura 2. Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. A) Fase inicial, B) Fase intermediária, e C) Fase final.

Características de manejo da piscicultura estudada

Na Tabela 1, são apresentadas as características de manejo utilizadas em cada fase de criação na piscicultura avaliada. O ciclo de produção, desde a fase inicial até a final, apresentava duração de aproximadamente quatro meses. De acordo com o proprietário, constantemente era realizado o monitoramento da qualidade da água. A piscicultura não fazia uso de antibióticos (para profilaxia ou tratamento de doenças), sendo que o único método terapêutico utilizado era feito através do uso de sal. Antes da classificação por fases de criação, os peixes eram submetidos a um banho de sal; e também, uma tampa de sal era colocada constantemente na parte superior de cada tanque-rede.

Tabela 1. Características de manejo adotadas em cada fase de criação para o cultivo de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, município de Mira Estrela, Estado de São Paulo, Brasil.

Características	Fase de criação		
	Inicial	Intermediária	Final
Dimensão dos tanques-rede (m ³)	6	6	6
Densidade por tanque-rede	5000	2000	800
Peso (g)	2 a 150	151 a 400	401 a 800
Alimentação	8 vezes ao dia	5 vezes ao dia	3 vezes ao dia
Tipo de ração	Ração comercial extrusada com 38% de proteína bruta	Ração comercial extrusada com 32% de proteína bruta	Ração comercial extrusada com 32% de proteína bruta

Análise da qualidade da água

No dia de cada coleta, foram avaliadas a temperatura, a transparência e a concentração de oxigênio dissolvido na água com o auxílio de aparelho multissensor de marca “YSY - Mod.50. Posteriormente, uma amostra de 500 mL de água era resfriada para a análise no laboratório dos seguintes parâmetros: amônia, nitrito e pH, processados com o auxílio de reagentes da marca Alfakit®.

Processamento e análise microbiológica

No laboratório, os animais foram submetidos à biometria, para anotação do peso e comprimentos padrão e total. Posteriormente, foi realizado um exame macroscópico externo dos espécimes, para a observação de qualquer sinal clínico que pudesse indicar a presença de bactérias patogênicas.

Após esse procedimento, os animais foram sacrificados por meio de comoção cerebral, desinfetados com álcool 70% e, assepticamente foi realizada a necropsia e coleta de amostras do rim cefálico e cérebro sob fluxo laminar.

O material foi semeado em Brain Heart Infusion (BHI - Difco) acrescido de 1% de Bacto Ágar e 5% de sangue ovino, e em MacConkey Agar (Difco), sendo incubados a 30 °C durante 24 a 48 horas. Após o período de incubação, procedeu-se a caracterização das estirpes isoladas através da morfologia das colônias, hemólise, teste de Gram, oxidase e catalase. Em seguida, as colônias isoladas foram semeadas em placas de Petri contendo o meio Tryptic Soy Agar (TSA - Difco), sendo incubadas a 30 °C durante 24 horas, para posterior identificação através de provas bioquímicas, utilizando-se os kits API 20 E e API 20 Strep, Biomerieux®, mais provas complementares.

A susceptibilidade dos isolados a antimicrobianos foi determinada pela técnica de difusão em disco em ágar Mueller-Hinton (20). O teste de sensibilidade aos antibióticos foi realizado com apenas duas estirpes, referentes às bactérias *Streptococcus agalactiae* e *Pseudomonas* sp. Foram utilizados os seguintes antibióticos para o teste de sensibilidade: Florfenicol, Amoxicilina, Sulfazotrim, Tetraciclina, Neomicina, Norfloxacin, Ampicilina, Gentamicina, Ácido Nalidíxico, Penicilina, Cloranfenicol e Estreptomina. As placas com os inóculos foram incubadas em estufa à temperatura de 30 °C por 24 horas. Após esse período, os diâmetros das zonas de inibição foram mensurados e comparados com a tabela de performance padrão para testes de susceptibilidade a antibióticos e, então, classificados em: resistente, intermediário ou sensível.

Análise estatística

A comparação da prevalência das bactérias em relação às fases de criação e a sazonalidade foram feitas utilizando-se o teste de proporção (teste Z).

Os testes estatísticos foram calculados através do programa SigmaStat 3.1 (Systat Software Inc., California, USA), adotando-se o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Foi observada a presença das seguintes bactérias: *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas* spp., *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas* spp., *Citrobacter freundii*, *Plesiomonas shigelloides*, *Vibrio* spp., *Pantoea* spp., *Serratia* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bergeyella zoohelium*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter* spp., *Moraxella osloenses* e *Ochobactrum anthrope* (Tabela 2). Verificou-se que 42,9% dos peixes estavam infectados por pelo menos um *taxon*, sendo que as bactérias isoladas estavam presentes no cérebro (11,1%), rins (48,2%) ou em ambos os órgãos (40,7%).

Entre os exemplares infectados, apenas dois apresentaram sinais clínicos da presença de bacterioses: um deles, infectado com *Aeromonas* sp., apresentava-se letárgico e com exoftalmia; e o outro, infectado com *Pseudomonas* sp., foi observado com uma coloração pálida no fígado.

Os dados biométricos dos peixes e a prevalência total das bactérias encontradas em cada fase de criação podem ser observados na Tabela 3. Verificou-se que as prevalências totais das bactérias observadas em cada fase de criação apresentaram valores similares ($p > 0,05$).

A variação na prevalência de cada espécie de bactéria isolada de acordo com a fase de criação é mostrada na Tabela 4, e de acordo com a sazonalidade na Tabela 5. Valores semelhantes foram observados com relação à prevalência das bactérias entre as fases de criação ou sazonalidade ($p > 0,05$).

Com relação ao antibiograma, observou-se que *S. agalactiae* apresentou resistência à maioria dos antibióticos testados, com exceção do Florfenicol. *Pseudomonas* sp.

apresentou um nível intermediário (entre a sensibilidade e a resistência) para a maioria dos antibióticos testados, sendo observada sensibilidade somente à Estreptomicina (Tabela 6).

Tabela 2. Prevalência e órgão de isolamento das bactérias encontradas em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil durante o período de março de 2010 a março de 2011.

	Órgão de isolamento	Prevalência (%)
<i>Aeromonas</i> spp.	Rim e cérebro	7,9
<i>Bergeyella zooheleum</i>	Rim	1,6
<i>Burkholderia cepacia</i>	Rim	1,6
<i>Citrobacter freundii</i>	Rim	3,2
<i>Enterobacter</i> spp.	Rim e cérebro	14,3
<i>Flavobacterium columnare</i>	Rim e cérebro	15,9
<i>Moraxella osloenses</i>	Rim	1,6
<i>Ochobactrum anthrope</i>	Cérebro	1,6
<i>Pantoea</i> spp.	Rim	1,6
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Rim	1,6
<i>Pseudomonas</i> spp.	Rim e cérebro	17,5
<i>Serratia</i> spp.	Rim	3,2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Rim e cérebro	11,1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Rim e cérebro	1,6
<i>Vibrio</i> spp.	Rim e cérebro	3,2
Total	-	42,9

Na Tabela 7, podem ser verificados os parâmetros físico-químicos da água mensurados no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil. O pH, amônia, amônia tóxica e nitrito apresentaram valores semelhantes durante todo o período de estudo. A transparência da água e os níveis de oxigênio dissolvido apresentaram-se com valores mais baixos durante o mês de novembro de 2010. Com relação à temperatura da água, foram encontrados os menores valores nos meses referentes ao período seco (maio, julho e setembro de 2010).

Tabela 3. Prevalência (P) das bactérias isoladas e os dados biométricos observados nas diferentes fases de criação de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, durante o período de março de 2010 a março de 2011.

Fase	Peso (g)	Comprimento padrão (cm)	P (%)
Inicial	56,38 ± 13,7 (1,35 - 214,3)	10,06 ± 0,93 (4,2 - 17,2)	23,8
Intermediária	228,58 ± 27,4 (59,8 - 444,6)	17,97 ± 0,78 (13 - 23,5)	57,1
Final	590,63 ± 59,6 (205,35-1481,1)	24,21 ± 0,8 (17 - 32)	52,4

Tabela 4. Prevalência das bactérias isoladas em cada fase de criação em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil durante o período de março de 2010 a março de 2011.

Bactérias	Prevalência (%)		
	Inicial	Intermediária	Final
<i>Aeromonas</i> spp.	0	14,3	9,5
<i>Bergyella zooheleum</i>	0	0	4,8
<i>Burkholderia cepacia</i>	0	4,8	0
<i>Citrobacter freundii</i>	0	4,8	4,8
<i>Enterobacter</i> spp.	4,8	23,8	14,3
<i>Flavobacterium columnare</i>	4,8	23,8	19,1
<i>Moraxella osloenses</i>	0	4,8	0
<i>Ochobactrum anthrope</i>	4,8	0	0
<i>Pantoea</i> spp.	0	0	4,8
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0	0	4,8
<i>Pseudomonas</i> spp.	19,1	9,5	23,8
<i>Serratia</i> spp.	0	4,8	4,8
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4,8	14,3	14,3
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	4,8	0
<i>Vibrio</i> spp.	0	4,8	4,8

Tabela 5. Variação sazonal da prevalência das bactérias isoladas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil durante o período de março de 2010 a março de 2011.

Bactérias	Prevalência (%)	
	Período seco (n = 27)	Período chuvoso (n = 36)
<i>Aeromonas</i> spp.	9,5	8,3
<i>Bergyella zooheleum</i>	3,7	0
<i>Burkholderia cepacia</i>	0	2,8
<i>Citrobacter freundii</i>	7,4	0
<i>Enterobacter</i> spp.	22,2	8,3
<i>Flavobacterium columnare</i>	18,5	13,9
<i>Moraxella osloenses</i>	3,7	0
<i>Ochobactrum anthrope</i>	0	2,8
<i>Pantoea</i> spp.	0	2,8
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0	2,8
<i>Pseudomonas</i> spp.	7,4	22,2
<i>Serratia</i> spp.	0	5,6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3,7	16,7
<i>Streptococcus</i> spp.	0	2,8
<i>Vibrio</i> spp.	3,7	2,8
Total	37,1	47,2

Tabela 6. Antibiograma das bactérias isoladas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de cultivo em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, durante o período de março de 2010 a março de 2011. R = resistente; I = intermediário; S = sensível.

Antibiótico	<i>Streptococcus agalactiae</i> *	<i>Pseudomonas</i> sp.**
Ácido Nalidíxico	R	I
Amoxicilina	R	I
Ampicilina	R	R
Cloranfenicol	R	I
Estreptomicina	I	S
Florfenicol	S	I
Gentamicina	R	I
Neomicina	I	I
Norfloxacina	I	I
Penicilina	R	R
Sulfazotrim	R	R
Tetraciclina	R	I

* Amostra isolada do cérebro. ** Amostra isolada do rim.

Tabela 7. Parâmetros físico-químicos da água mensurados na Bacia do rio Grande, reservatório de Água Vermelha, próximo à Unidade de piscicultura em tanques-rede de Mira Estrela, Estado de São Paulo, Brasil, durante o período de março de 2010 a março de 2011.

Parâmetros	Meses de coleta						
	Mar/10	Mai/10	Jul/10	Set/10	Nov/10	Jan/11	Mar/11
O ₂ D ¹	6,6	6,7	6,3	7,6	3,9	6,2	5,2
Tr ²	2	> 2	> 1,5	1,45	0,98	>1,5	> 1,5
pH	7	7	7	6,8	6,5	7,5	7
T ³	29,3	24,5	22,9	23,6	28,6	30,8	28,6
Am ⁴	0,1	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1
At ⁵	9 x 10 ⁻⁴	0	0	6 x 10 ⁻⁴	2,3 x 10 ⁻⁴	2,3 x 10 ⁻⁴	9 x 10 ⁻⁴
Nt ⁶	0,1	0,03	0	0	0,03	0,1	0,03

¹Oxigênio dissolvido (mg/L); ²Transparência (m); ³Temperatura (°C); ⁴Amônia (mg/L); ⁵Amônia tóxica (mg/L); ⁶Nitrito (mg/L).

DISCUSSÃO

No presente estudo, foi realizada avaliação microbiológica de *O. niloticus* criadas em tanques-rede no rio Grande, reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, verificando suas inter-relações com as características limnológicas e fase de criação. Foi observada a presença de oito espécies e sete gêneros de bactérias, sendo que aquelas frequentemente encontradas e que possuem grande importância na produção comercial de *O. niloticus* são: *Streptococcus* spp., *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp. e *F. columnare* (14).

Diversos fatores predisõem os peixes a infecções bacterianas, tais como: má nutrição, acúmulo de resíduos orgânicos nos tanques ou viveiros, estresse causado pelo manejo ou transporte, qualidade inadequada da água e mudança abrupta da temperatura (14, 21, 22).

A maioria dos parâmetros físico-químicos da água mensurados no presente trabalho apresentou valores adequados para o cultivo de *O. niloticus*, exceto a temperatura, que nos meses referentes ao período seco estava abaixo do recomendado para a espécie, que varia entre 27 a 32°C (14). Apesar disso, a prevalência de todas as bactérias encontradas neste

período foi baixa, não apresentando diferenças estatísticas significativas com relação ao período chuvoso.

Uma grande variedade de bactérias do gênero *Streptococcus* foi associada a septicemias em peixes. Este patógeno é considerado um dos mais importantes na criação de tilápias, uma vez que é responsável por causar uma das doenças mais sérias nos sistemas de cultivo (26). No presente estudo, a prevalência total *S. agalactiae* foi menor do que a observada por Salvador *et al.* (26) em *O. niloticus* cultivadas em tanques-rede na região Norte do Paraná, Brasil. Salvador *et al.* (26) verificaram um maior número de infecções nos meses com temperaturas mais elevadas, sendo que os principais sinais clínicos observados nos peixes foram: hepatomegalia, esplenomegalia, lesão de pele e base das nadadeiras, e exoftalmia com opacidade da córnea.

As bactérias dos gêneros *Aeromonas* e *Pseudomonas* podem ser frequentemente isoladas de peixes saudáveis, uma vez que são de ocorrência comum no solo e na água (22). Infecções por estas bactérias geralmente são causadas quando há algum distúrbio ambiental ou pressão de manejo, podendo levar a um quadro de infecção generalizada (septicemia hemorrágica) em peixes (6, 14). No presente estudo, apenas um exemplar infectado por *Aeromonas* spp., e outro infectado com *Pseudomonas* spp., apresentaram sinais clínicos de doença causada por estas bactérias.

As espécies pertencentes ao gênero *Pseudomonas* foram as mais prevalentes no presente estudo. Entretanto, uma maior taxa de prevalência foi observada por Eissa *et al.* (7), estudando *O. niloticus* proveniente dos lagos de Qaroun e Wadi-El Rayan, no Egito. Neste estudo, Eissa *et al.* (7) observaram sinais típicos de septicemia ocasionada por esta bacteriose, como: vermelhidão por todo o corpo, hemorragia, inchaço abdominal, com presença de líquido sanguinolento e olhos opacos.

Martins *et al.* (19) observaram uma alta mortalidade devido a infecção por *Aeromonas caviae* em *O. niloticus* criadas em tanques-rede no reservatório de Três Irmãos, Estado de São Paulo, Brasil. As variáveis limnológicas não apresentaram relação com a mortalidade e o único sinal clínico observado após a necropsia foi palidez do fígado. Foi realizada suplementação com vitamina C na dieta dos peixes e após esse tratamento, houve 58% de redução da mortalidade. De acordo com Martins *et al.* (19), a manutenção dos

peixes em sistema intensivo, o baixo nível de vitamina C na dieta e o manejo inadequado podem ter colaborado para o surgimento da infecção.

Flavobacterium columnare é responsável por causar a doença conhecida como columnariose, a qual afeta uma ampla gama de peixes de água doce em todo o mundo (3). Apresenta grande impacto econômico sobre a produção de peixes, uma vez que pode ocasionar elevada taxa de mortalidade (29). No presente estudo, *F. columnare* apresentou a segunda maior prevalência entre as bactérias encontradas, porém nenhum dos peixes analisados apresentou sinais clínicos desta bacteriose.

No Brasil, há poucos registros da presença de *F. columnare* em peixes, tendo sido relatada apenas em *O. niloticus* (8, 28), *Mugil platanus* (30), *Brycon orbignyanus*, *Piaractus mesopotamicus*, *Colossoma macropomum* e *Hypostomus plecostomus* (23).

As bactérias *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Plesiomonas shigelloides*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio* spp., *Bergeyella zooheleum*, *Burkholderia cepacia*, *Moraxella osloenses*, *Ochobactrum anthrope*, *Pantoea* spp., e *Serratia* spp. encontradas neste estudo, fazem parte da microbiota aquática, e geralmente entram no hospedeiro através do sistema digestivo ou lesões na pele e brânquias. Entretanto, quando ocorre algum desequilíbrio ambiental e os peixes são submetidos a alguma situação de estresse, estes microrganismos podem ocasionar infecção generalizada (septicemia), levando os peixes a morte e trazendo prejuízos consideráveis ao piscicultor (1, 4, 9, 11, 12, 25, 27, 28).

Alguns trabalhos presentes na literatura relatam a ocorrência destas bactérias em peixes. Shama *et al.* (30), realizaram um levantamento das bactérias presentes nos rins e lesões externas de jundiás (*Rhamdia quelen*) criadas em sistema semi-intensivo na região de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Foram observados 11 diferentes gêneros bacterianos, dentre eles *P. shigelloides* e *Vibrio* spp., encontrados com maiores taxas de prevalência do que as observadas no presente estudo.

Apun *et al.* (2) realizaram exames bacteriológicos em diversos órgãos (fígado, rim, intestino e músculo) de quatro espécies de peixes pertencentes a família Cyprinidae. Um total de 16 espécies de bactérias foi recuperado de diferentes órgãos dos peixes, tais como:

C. freundii, *Enterobacter aerogenes*, *P. shigelloides*, *Serratia liquefaciens* e *Vibrio anguillarum*.

Recentemente, *S. maltophilia* foi isolada dos rins, fígado e líquido ascítico do bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), provenientes de lagos e de piscicultura em tanques-rede na província de Sichuan, China (9).

Loch & Faisal (18) isolaram a bactéria *Pantoea agglomerans* dos rins da truta-marrom (*Salmo trutta*) provenientes do lago Huron, Michigan, Estados Unidos.

De acordo com Kubitza & Kubitza (15), a tolerância dos peixes a certos patógenos aumenta com a idade, a medida em que o sistema imune é fortalecido e desenvolve memória imunológica depois de repetidas e contínuas exposições aos antígenos relacionados a estes organismos. Entretanto, no presente estudo, a prevalência das bactérias isoladas de *O. niloticus* não diferiu estatisticamente entre as fases de criação. Uma das razões para a ocorrência desse resultado pode estar relacionada ao fato de que o ciclo de produção de *O. niloticus* é muito curto na piscicultura estudada.

As bactérias encontradas no presente estudo normalmente habitam os sistemas aquáticos e convivem em pleno equilíbrio com os peixes, até o momento em que algum distúrbio ambiental ou pressão de manejo os predispõe ao ataque de organismos patogênicos (14, 22). Foi observada baixa prevalência das bactérias isoladas, sendo que a maioria dos peixes não apresentou sinais clínicos de bacterioses. Possivelmente, tal situação ocorreu devido a influência de fatores, como: qualidade da água, nutrição, manejo e densidade de estocagem adequadas para o cultivo de *O. niloticus* na propriedade amostrada.

O ambiente aquícola consiste em um importante meio para a seleção de espécies bacterianas resistentes a vários antibióticos, devido a utilização, muitas vezes de forma indiscriminada, de tais substâncias no tratamento e profilaxia de determinadas doenças bacterianas (17). Apesar da piscicultura estudada não utilizar qualquer tipo de antibiótico para profilaxia ou controle de doenças, as bactérias submetidas ao teste do antibiograma apresentaram sensibilidade a apenas dois dos antibióticos testados. Resultado semelhante foi encontrado por Lima *et al.* (17), os quais observaram resistência das bactérias isoladas

de *O. niloticus* provenientes de piscicultura em tanques escavados a todos os antibióticos testados, embora não houvesse o uso destas substâncias.

Estes resultados sugerem que a resistência aos antibióticos pode ser promovida e mantida por outros fatores, além da sua utilização no ambiente aquático. Os antibióticos têm sido utilizados em grandes quantidades nas criações animais (pecuária), sendo que muitas dessas moléculas não são totalmente metabolizadas no organismo animal, uma vez que são excretados na urina e nas fezes. A utilização de excretas de animais e do lodo de esgoto para fins de adubação consiste numa das principais vias de disseminação desses compostos, e uma vez no ambiente, os resíduos de antibióticos podem acumular-se no solo, sofrer lixiviação ou, ainda, ser transportados, via escoamento superficial, para os corpos hídricos (24).

Ademais, o contato físico entre as bactérias no meio aquático possibilita uma alta frequência de troca de elementos genéticos móveis, como plasmídios e transposons, sendo particularmente importantes para a difusão de resistência a drogas (5, 17).

Através dos resultados obtidos, pode-se constatar a ocorrência no reservatório de Água Vermelha, Estado de São Paulo, Brasil, das principais bacterioses que acometem o cultivo de *O. niloticus*, e que as características limnológicas e fase de criação não influenciaram na ocorrência desses organismos. Além disso, este é o primeiro registro da ocorrência de bacterioses no reservatório estudado.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Processo n° 577649/2008-6), a CAPES e à FAPESP (Processo n° 2010/01424-0) pelo auxílio financeiro durante a realização da pesquisa. Ao Sr. Luís Borges, proprietário da Unidade de piscicultura em tanques-rede de Mira Estrela, Estado de São Paulo, Brasil, pela doação dos peixes. Aos amigos do Instituto de Pesca de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, Brasil, biólogo Pedro Guilherme Panin Candeira, MSc Fernando Stopato da Fonseca e Dr. Eduardo Makoto Onaka pelo auxílio durante as coletas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aldová, E.; Melter, O.; Chýle, P.; Slosárek, M.; Kodym, P. (1999). *Plesiomonas shigelloides* in water and fish. *Central European Journal of Public Health* 7 (4), 172-175.
2. Apun, K.; Yusof, A. M.; Jugang, K. (1999). Distribution of bacteria in tropical freshwater fish and ponds. *International Journal of Environmental Health Research* 9, 285-292.
3. Austin, B.; Austin, D. A. (2007). *Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish*. 4th edn. Springer & Praxis Publishing, United Kingdom.
4. Baya, A. M.; Toranzo, A. E.; Lupiani, B.; Santos, Y.; Hetrick, F. M. (1992). *Serratia marcescens*: a potential pathogen for fish. *Journal of Fish Diseases* 15 (1), 15-26.
5. Carneiro, D. O.; Figueiredo, H. C. P.; Pereira Jr., D. J.; Leal, C. A. G.; Logato, P. V. R. (2007). Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 59 (4), 869-876.
6. Cipriano, R. C.; Bullock, G. L.; Pyle, S. W. (1984). *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. *US Fish & Wildlife Publications*. <http://digitalcommons.unl.edu/usfwspubs/134>
7. Eissa, N. M. E.; Abou El-Ghiet, E. N.; Shaheen, A. A.; Abbass, A. (2010). Characterization of *Pseudomonas* species isolated from tilapia "*Oreochromis niloticus*" in Qaroun and Wadi-El-Rayan Lakes, Egypt. *Global Veterinaria* 5 (2), 116-121.
8. Figueiredo, H. C. P.; Klesius, P. H.; Arias, C. R.; Evans, J.; Shoemaker, C. A.; Pereira Jr, D. J.; Peixoto, M. T. D. (2005). Isolation and characterization of strains of *Flavobacterium columnare* from Brazil. *Journal of Fish Diseases* 28, 199–204.
9. Geng, Y.; Wang, K.; Chen, D.; Huang, X.; He, M.; Yin, Z. (2010). *Stenotrophomonas maltophilia*, an emerging opportunist pathogen for cultured channel catfish, *Ictalurus punctatus*, in China. *Aquaculture* 308 (3-4), 132–135.

10. Hirsch, D.; Pereira-Júnior, D. J.; Logato, P. V. R.; Piccoli, R. H.; Figueiredo, H. C. P. (2006). Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. *Ciência e Agrotecnologia* 30 (6), 1211-1217.
11. Karunasagar, I.; Karunasagar, I.; Pai, R. (1992). Systemic *Citrobacter freundii* infection in common carp, *Cyprinus carpio* L., fingerlings. *Journal of Fish Diseases* 15, 95-98.
12. Kasing, A.; Yusof, A. M.; Jugang, K. (1999). Distribution of bacteria in tropical freshwater fish and ponds. *International Journal of Environmental Health Research* 9 (4), 285-292.
13. Ono, E. A. & Kubitza, F. (1999). *Cultivo de peixes em tanques-rede*. F. Kubitza, Jundiaí.
14. Kubitza, F. (2000). *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. F. Kubitza, Jundiaí.
15. Kubitza, F.; Kubitza, L. M. M. (2004). *Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados*. F. Kubitza, Jundiaí.
16. Lemos, J. B., Rodrigues, M. E. B.; Lopes, J. P. (2006). Diagnóstico de ectoparasitas e bactérias em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas na região de Paulo Afonso, Bahia. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca* 1 (1), 75-90.
17. Lima, R. M. S.; Figueiredo, H. C. P.; Faria, F. C.; Piccoli, R. H.; Bueno Filho, J. S. S.; Rosa, P. V. (2006). Resistência a antimicrobianos de bactérias oriundas de ambiente de criação e filés de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Agrotecnologia* 30 (1), 126-132.
18. Loch, T. P.; Faisal, M. (2007). Isolation of *Pantoea agglomerans* from Brown Trout (*Salmo trutta*) from Gilchrist Creek, Michigan, USA. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 27 (5), 200.
19. Martins, M. L.; Miyazaki, D. K. Y; Mouriño, J. L. P. (2008). *Aeromonas caviae* durante surto de mortalidade em tilápia do Nilo e suplementação com vitamina C na dieta. *Boletim do Instituto de Pesca*, 34 (4), 585 - 590.

20. National Committee for Clinical Laboratory Standards (2000). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. 7th edn. Approved standard M2–A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne.
21. Pasnik, D. J.; Evans, J. J.; Klesius, P. H. (2005) Duration of protective antibodies and correlation with survival in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* following *Streptococcus agalactiae* vaccination. *Diseases of Aquatic Organisms* 66,129-34.
22. Pavanelli, G. C.; Eiras, J. C.; Takemoto, R. M. (2008). *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. 3rd. edn. Eduem, Maringá.
23. Pilarski, F.; Rossini, A. J.; Ceccarelli, P. S. (2008). Isolation and characterization of *Flavobacterium columnare* (Bernardet *et al.* 2002) from four tropical fish species in Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 68 (2), 409-414.
24. Regitano, J. B. & Leal, R. M. P. (2010). Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34, 601-616.
25. Saeed, M.O. (1995). Association of *Vibrio haweyi* with mortalities in cultured marine fish in Kuwait. *Aquaculture* 136, 21-29.
26. Salvador, R.; Müller, E. E.; Leonhardt, J. H.; Pretto-Giordano, L. G.; Dias, J. A.; Freitas, J. C.; Moreno, A. M. (2003). Isolamento de *Streptococcus* spp. de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e qualidade da água de tanques rede na Região Norte do Estado do Paraná, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias* 24 (1), 35-42.
27. Sato, N.; Yamane, N.; Kawamura, T. (1982). Systemic *Citrobacter freundii* infection among sunfish *Mola mola* in Matsushima Aquarium. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 48 (11), 1551-1557.
28. Sebastião, F. A.; Nomura, D.; Sakabe, R.; Pilarski, F. (2011). Hematology and productive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) naturally Infected with *Flavobacterium columnare*. *Brazilian Journal of Microbiology* 42 (1), 282-289.

29. Sebastião, F. A.; Pilarski, F.; Lemos, M. V. F. (2010). Isolation and molecular characterization of *Flavobacterium columnare* strains from fish in Brazil. *Journal of Bacteriology Research* 2 (3), 22-29.
30. Shama, S.; Brandão, D. A.; Vargas, A. C.; Costa, M. M.; Pedrozo, A. F. (2000) Bactérias com potencial patogênico nos rins e lesões externas de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados em sistema semi-intensivo. *Ciência Rural* 30 (2), 293-298.