

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 07/06/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Francisella noatunensis orientalis EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADAS EM TANQUES-REDE NA BACIA
HIDROGRÁFICA DO RIO ARAGUARI – MINAS GERAIS

FERNANDA RAGHIANTE

Botucatu - São Paulo

Junho/2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Francisella noatunensis orientalis EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADAS EM TANQUES-REDE NA BACIA
HIDROGRÁFICA DO RIO ARAGUARI – MINAS GERAIS

FERNANDA RAGHIANTE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Área de Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar, como critério para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Germano Francisco Biondi
(Orientador)

Dr. Otávio Augusto Martins
(Co-Orientador)

Botucatu - São Paulo

Junho/2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Raghianti, Fernanda.

Francisella noatunensis orientalis em tilápias
(Oreochromis niloticus) cultivadas em tanques-rede na bacia
hidrográfica do rio Araguari-Minas Gerais / Fernanda
Raghianti. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia

Orientador: Germano Francisco Biondi

Coorientador: Otávio Augusto Martins

Capes: 50505009

1. Tilápia-do-Nilo. 2. Franciselose - Diagnóstico. 3.
Francisella. 4. Bactérias. 5. Peixe - Saúde. 6. Reação em
cadeia da polimerase.

Palavras-chave: Diagnóstico; Franciselose; Sanidade
Aquícola; qPCR.

Doutoranda: Fernanda Raghianti

Título: *Francisella noatunensis orientalis* em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em tanques-rede na bacia hidrográfica do rio Araguari – Minas Gerais

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr. Otávio Augusto Martins

Presidente e Co-orientador

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Botucatu – SP

Prof. Dr. Luiz Carlos de Souza

Titular

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Botucatu – SP

Prof. Dr. Paulo Francisco Domingues

Titular

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Botucatu - SP

Prof. Dr. Noé Ribeiro da Silva
Titular
Universidade Federal de Uberlândia
Diretor de ensino, Pesquisa e Extensão da Fundação de Excelência Rural de
Uberlândia

Prof. Dr. Edson José Fragiorge
Titular
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Do Triângulo Mineiro –
Campus Uberlândia.

Prof. Dr. Jean Guilherme Fernandes Joaquim
Suplente
Unidade Técnica Regional de Agricultura
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Botucatu – SP.

Dra. Anee Valéria Mendonça Stachissini
Suplente
Unidade Técnica Regional de Agricultura
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Botucatu – SP.

Dra. Marianna Vaz Rodrigues
Suplente
Departamento de Medicina Veterinária
Universidade Paulista – UNIP – Bauru – SP.

Data de defesa: 07 de junho de 2016.

*Dedico esse trabalho aos meus amados filhos,
Enrico e Lorenzo. É por vocês que vivo...é
por vocês que cheguei até aqui!*

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades e mostrar o caminho nas horas incertas.

Ao meu amado esposo, Rodrigo, meu especial agradecimento pelo carinho e amor com que sempre cuida da nossa família, em especial na minha ausência; pelo amor e apoio incondicional em todos os momentos, estando ao meu lado e me dando força do início ao fim desse nosso trabalho.

Aos meus filhos, Enrico e Lorenzo, que à sua maneira compreenderam e aceitaram a minha ausência, me acompanharam nas vezes que moramos em Botucatu e se adaptaram de forma surpreendente a uma nova rotina, a um novo clima, sem nunca questionarem, apenas me fazendo sorrir.

Aos meus pais, Lourival e Fátima, meus agradecimentos por todo apoio e incentivo durante toda minha vida, e sobretudo, nos momentos mais difíceis nos últimos três anos, suprimindo minhas necessidades e ausências junto aos meus filhos e permitindo que me dedicasse à finalização do meu trabalho.

Ao professor e orientador Dr. Germano Francisco Biondi, pela amizade, confiança e por mais uma vez abrir as portas da UNESP para que eu pudesse me aperfeiçoar e continuar crescendo em minha profissão.

Ao meu amigo e co-orientador, Dr. Otávio Augusto Martins, pelo apoio e valiosa contribuição nos momentos finais dessa trajetória. Exemplo de ética, caráter e sabedoria que levarei sempre comigo, junto à minha profissão. A você, nossa (minha e de minha família) eterna gratidão!

Ao Professor Dr. João Pessoa Araújo Júnior do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP que possibilitou o suporte financeiro à execução do projeto junto ao Laboratório do Instituto de Biotecnologia – UNESP.

Ao diretor executivo, Professor Dr. Celso Luis Marino, do Instituto de Biotecnologia – UNESP – *Campus* de Botucatu que permitiu gentilmente a utilização dos laboratórios para a execução do projeto.

À Dra. Marianna Vaz Rodrigues, pela fundamental contribuição na execução do projeto, pelos valiosos ensinamentos e por humildemente compartilhar de seus conhecimentos de forma memorável.

Aos colegas da Pós-graduação, em especial a Marina de Mattos Ferrasso e seu namorado João Pedro, pela amizade e pela imensurável ajuda e suporte em diversos momentos no final dessa trajetória.

Ao meu grande amigo Aguinaldo Marques (Pena) e sua amável esposa, Vera, pelo carinho e apoio em todos os momentos que estive em Botucatu. Levarei sua amizade comigo por toda vida!

Aos meus amigos Elaine Alves dos Santos e Rodrigo Faria Sousa Pereira pela amizade sincera e pela disposição em ajudar, sem medirem esforços.

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1. <i>Primers</i> utilizados para pesquisa de <i>Francisella noatunensis orientalis</i>	34
TABELA 2. Média \pm erro padrão da massa corpórea (g) e do comprimento (cm) de <i>Oreochromis niloticus</i> machos e fêmeas. Análise estatística complementado com o Teste Kramer-Tukey ($p < 0,05$).....	36
TABELA 3. Associação entre a presença de <i>Francisella</i> spp. e sexo e comprimento das tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>) analisadas	38
TABELA 4. Porcentagem (%) da lesão macroscópica e da confirmação laboratorial da presença de <i>Francisella</i> spp. pela qPCR em baço de tilápias machos e fêmeas.....	38
TABELA 5. Valores de <i>threshold cycle</i> e temperatura de <i>melting</i> das amostras positivas e dos controles positivo e negativo para <i>Francisella</i> spp. realizado pela qPCR.....	39
TABELA 6. Distribuição e prevalência de amostras de baço de <i>Oreochromis niloticus</i> positivas para <i>Francisella</i> spp. pelo método de qPCR nos frigoríficos da região da bacia hidrográfica do rio Araguari, Minas Gerais, Brasil	40

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. <i>Oreochromis niloticus</i>	5
FIGURA 2. <i>Tilapia rendalli</i>	6
FIGURA 3. <i>Oreochromis aureus</i>	7
FIGURA 4. <i>Oreochromis urolepis hornorum</i>	7
FIGURA 5. <i>Oreochromis mossambicus</i>	8
FIGURA 6. Tanques escavados.....	10
FIGURA 7. Tanque escavado com proteção contra predadores naturais.....	10
FIGURA 8. Tanque-rede.....	12
FIGURA 10: Baço de tilápia com lesões sugestivas de <i>Francisella</i> spp.....	17
FIGURA 11: Baço hipertrofiado com lesões granulomatosas.....	17
FIGURA 12. Alterações em tecidos de tilápias experimentalmente infectadas com <i>Francisella noatunensis orientalis</i> . (A). Granuloma (g) em na porção anterior de rim com predominância de macrófagos epitelióides pálidos e vacuolizados. Granulomas com núcleos escurecidos representam dissociação de linfócitos. (B) Granuloma (g) na porção posterior com túbulos renais deslocados perifericamente (setas).....	18
FIGURA 13. Representação esquemática das fases da qPCR. ■ = amostra com DNA alvo; ◆ = amostra controle; Rn = intensidade do sinal fluorescente; (a) linear; (b) exponencial inicial; (c) logarítmica linear; (d) platô.....	24
FIGURA 14. Representação esquemática da variação linear de amplificação conforme o número de cópias de DNA obtidas pela qPCR.....	25
FIGURA 15. Vista da bacia hidrográfica do Rio Araguari na mesorregião do Triângulo Mineiro, a uma distância aproximada de 207,07 Km.....	32
FIGURA 16. Porcentagem (%) de lesões observadas nas tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>), presentes nos frigoríficos A, B e C, localizados na bacia hidrográfica do rio Araguari, Minas Gerais, Brasil	37
FIGURA 17. Ponto de amplificação das 6 amostras positivas de baço de tilápias na qPCR para <i>Francisella</i> spp. em comparação com o controle positivo <i>Francisella noatunensis orientalis</i>	39
FIGURA 18. Curva de <i>Melting</i> para as 6 amostras positivas de baço de tilápias comparadas ao controle positivo <i>Francisella noatunensis orientalis</i>	40

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: Tese

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO	3
1. REVISÃO DE LITERATURA	5
1.1 Espécies de tilápias	5
1.2 Situação do cultivo de tilápias no Brasil	9
1.3 Sistemas de cultivo	9
1.3.1 Tanques escavados	9
1.3.2 Tanques-rede	11
1.4 <i>Francisella</i> spp	14
1.4.1 Patogenia	16
1.4.2 Sinais clínicos	18
1.4.3 Epidemiologia	19
1.4.4 Diagnóstico	21
1.4.4.1 PCR	22
1.4.4.2 qPCR	23
1.4.4.3 Sequenciamento	26
1.5 Prevenção e controle da franciselose	27
1.6 Produção	30
2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	30
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Número de amostras	31
3.2 Amostras	32
3.3 Identificação de <i>Francisella</i> spp por qPCR	33
3.3.1 Extração de DNA	33

	Página
3.3.2 qPCR.....	34
3.4 Sequenciamento.....	35
3.5 Análise estatística.....	36
4. RESULTADOS.....	36
5. DISCUSSÃO.....	41
6. CONCLUSÃO.....	45
7. REFERÊNCIAS.....	45

CAPÍTULO 2: Artigos Científicos

Journal of Fish Diseases: Authors Guidelines.....	67
Artigo: Prevalence of <i>Francisella</i> spp. in <i>Oreochromis niloticus</i> cultivated in cages system.....	80
Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: Normas para publicação.....	104
Artigo: <i>Francisella</i> spp. em tilápias no Brasil: uma revisão.....	112
Hepatomegalia e esplenomegalia em <i>Oreochromis niloticus</i> cultivadas em sistema de tanques-rede.....	132

CAPÍTULO 1: TESE

Francisella noatunensis orientalis EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADAS EM TANQUES-REDE NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO ARAGUARI – MINAS GERAIS

RESUMO

A franciselose em peixes podem causar sérias perdas econômicas aos produtores. Os objetivos dessa pesquisa foram estimar e identificar a prevalência de *Francisella noatunensis orientalis* em *Oreochromis niloticus* cultivadas em tanques-rede na bacia hidrográfica do rio Araguari – Minas Gerais – Brasil. Foram coletadas aleatoriamente 150 amostras de baço de *Oreochromis niloticus* oriundas de cultivos em tanques-rede localizados em reservatórios de hidrelétricas localizadas na bacia hidrográfica do rio Araguari - Minas Gerais, Brasil e abatidas em três frigoríficos distintos. Foram mensurados o comprimento padrão (cm) e a massa corpórea (g) dos peixes. Antes da coleta do baço, foi identificado o sexo dos peixes. O baço foi utilizado para identificar a *Francisella* spp. pelo método de qPCR. As fêmeas apresentaram uma massa corpórea e um comprimento padrão menores significativamente ($p < 0,0001$) quando comparados com os machos. Não foi observada relação significativa entre essas variáveis com a presença da bactéria ($p > 0,05$). Os resultados da qPCR identificaram a *Francisella* spp. em seis amostras, correspondendo a prevalência de 4 %. Dessas, duas foram encaminhadas para a realização do sequenciamento do gene *igC* pertencente à região 16S do RNA ribossômico, o qual identificou a presença de *Francisella noatunensis orientalis* em ambas. Esse achado de prevalência pode levar à instauração, por parte dos órgãos governamentais, de condutas de vigilância dos casos de franciselose no país, devido às importantes perdas econômicas geradas por seu agente etiológico.

Palavras-chave: franciselose, diagnóstico, qPCR, sanidade aquícola.

ABSTRACT

Francisellosis in fishes can cause serious economic losses to producers. The aims of this research were to estimate and verify the prevalence of *Francisella noatunensis orientalis* in *Oreochromis niloticus* grown in cages system in Araguari river hydrographic basin – Minas Gerais state – Brazil. It was collected, randomly, 150 spleen samples of *Oreochromis niloticus* derived crops in cages located in hydroelectric reservoirs placed in Araguari river hydrographic basin – Minas Gerais state – Brazil, from three different slaughterhouses. It was measured the fishes standard length (cm) and the body mass (g). Before the collection of the spleen, the gender of the fishes was identified. The spleen was used to identify the *Francisella* spp. by qPCR method. The female showed a body mass and significantly smaller standard length ($p < 0,0001$) when compared with males. It was not observed a significant relationship between these variables with the presence of bacterium ($p > 0,05$). The qPCR results identified *Francisella* spp. in six samples, representing a prevalence of 4 %. From these, two were directed to the achievement of the sequencing of the gene *iglC* belonging to the 16S ribosomal RNA identified the presence of *Francisella noatunensis orientalis* on both. This prevalence finding may lead to the establishment, from government departments, monitoring behavior of francisellosis cases in Brazil, due to major economic losses generated by its etiological agent.

Key words: francisellosis, diagnosis, qPCR, aquaculture health.

INTRODUÇÃO

A aquicultura, uma arte milenar de origem asiática, é traduzida na atualidade como a atividade do setor primário mais promissora a atender a deficiência de nutrição da população global. Isso se deve não apenas ao fato de fornecer proteína animal de qualidade, mas também por ser uma forma de reduzir a pobreza pela geração de oportunidades de trabalho para pessoas de baixa qualificação profissional nos ambientes rurais e urbanos (ROCHA; RODRIGUES, 2015).

Nas últimas cinco décadas, a produção global de peixes provenientes tanto de pesca extrativa quanto da aquicultura tem aumentado, sendo a China o maior produtor mundial de pescado (FAO, 2014). Nesse contexto, o Brasil ocupa o 17º lugar no *ranking* em aquicultura e a 25ª posição na pesca extrativista (BRASIL, 2010). Em relação apenas à produção continental, o Brasil encontra-se em 9º lugar, chegando a produzir 388.700 toneladas, equivalente a 0,9 % da produção total, enquanto que a China é líder absoluta com uma produção de 24.817.311 toneladas, o que corresponde a 60,1 % da produção de peixes mundial em continente (FAO, 2015a).

O Brasil possui um relevante potencial para o desenvolvimento da aquicultura em suas diversas regiões, cada qual com sua especificidade produtiva. Nos parques aquícolas continentais brasileiros os peixes mais cultivados são: tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) (BRASIL, 2016).

O Estado de Minas Gerais é o segundo maior produtor de tilápias da região sudeste, atrás apenas do estado de São Paulo (BRASIL, 2011). Na região do Triângulo Mineiro - Minas Gerais - Brasil, não há estimativa do volume de produção de tilápias, uma vez que 90 % dos piscicultores atuam na ilegalidade (BRASIL, 2016). Essa falta de fiscalização gera desinformação referente a possíveis patógenos que podem estar presentes nesses cultivos.

O pescado ainda não ocupa papel de destaque da produção de proteína animal no Brasil. O consumo de peixes recomendado pela OMS é de 12 quilogramas/habitante/ano sendo que a população brasileira consome 14,5

enquanto o consumo *per capita* mundial é de 19,2 quilogramas/habitante/ano (FAO, 2014; BRASIL, 2015a).

A tilápia do Nilo é a principal espécie cultivada no Brasil, devido principalmente à sua precocidade, fácil adaptação a diversos tipos de ambiente e sistemas de criação, excelentes taxas de crescimento e ótima aceitação pelo consumidor (TAVARES; PALHARES, 2011; KUBITZA et al., 2012). Além disso, a carne de tilápia é muito apreciada, por ser saborosa, com baixo teor de gordura (0,9 %) e de calorias (172 Kcal/100 g de carne). Outra vantagem é o fato desse peixe apresentar um rendimento de filé em torno de 30 % a 40 %, o que o torna bastante interessante para industrialização (NOGUEIRA; RODRIGUES, 2007).

A espécie *O. niloticus* apresenta um bom desempenho em sistemas intensivos de produção e vem se adaptando com sucesso a cultivos em tanques-rede (FURLANETO et al., 2006). Esse sistema de criação de peixes tem sido uma ótima alternativa para aproveitamento dos ambientes aquáticos inexplorados, dispensando o desmatamento e evitando problemas com erosão e assoreamento (CARDOSO et al., 2005).

Um dos grandes entraves da aquicultura é a densidade populacional em relação à área de criação, pois propicia maiores concentrações de matéria orgânica, desenvolvimento de algas e outros micro-organismos que causam impacto ambiental e nos animais. A criação em tanques-rede favorece a alta densidade, gerando estresse nos peixes, tornando-os aptos ao desenvolvimento de diversas infecções. Dentre os patógenos de maior ocorrência em piscicultura, destacam-se as bactérias que causam grandes prejuízos econômicos e sanitários (BARTON, 2002; ELLIS et al., 2002; NORTH et al., 2006).

Nesse contexto, as bactérias pertencentes do gênero *Francisella* tem sido muito estudadas devido a sua característica emergente. Nesse gênero, destaca-se a espécie *Francisella noatunensis orientalis*, responsável por perdas econômicas na produção de peixes. Essa espécie é responsável por causar principalmente granulomas multifocais em órgãos internos como baço, rins e fígado (SOTO et al., 2009a, 2012), levando a sérios prejuízos econômicos aos produtores (LIMA, 2007).

A identificação das bacterioses em peixes é realizada através da verificação dos sinais clínicos, isolamento de bactérias, técnicas bioquímicas e moleculares, como por exemplo, reação em cadeia da polimerase (PCR), em

especial a PCR em tempo real (qPCR), seguidas de métodos baseados em análises de sequenciamento da subunidade ribossomal 16S RNAr (JANDA; ABBOTT, 2007).

Medidas de prevenção e tratamento no cultivo de tilápias devem ser adotadas na tentativa de diminuir os riscos eminentes ofertados por esse micro-organismo. Para tal, o diagnóstico laboratorial e o manejo adequado são fundamentais para a manutenção da sanidade do plantel.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Espécies de tilápias

A tilapicultura é originária da Ásia, há mais de quatro mil anos. Seu expressivo crescimento nas últimas três décadas tem feito desse grupo de peixes um dos mais cultivados de forma extensiva no mundo. Nesse âmbito, a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Figura 1) é a principal espécie cultivada (EL-SAYED, 2006; SOTO et al., 2014).



FIGURA 1. *Oreochromis niloticus* (Fonte: STIASNY, 2003).

A chegada da tilápia ao Brasil, data da década de 1950, quando a espécie *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897) (Figura 2) foi importada de Élisabethville (Congo Belga), atual República Democrática do Congo – África (GURGEL,

6. CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo indicam que a *Francisella noatunensis orientalis* está presente nos criatórios de tilápias da região da bacia hidrográfica do rio Araguari, Minas Gerais, Brasil. O sexo e o tamanho dos peixes não influenciam na taxa de infecção deste micro-organismo. Mesmo com a prevalência numérica relativamente baixa, esse achado pode levar à instauração, por parte dos órgãos governamentais, de condutas de vigilância dos casos de franciselose no país, devido às importantes perdas econômicas geradas por seu agente etiológico em fazendas de cultivo de *Oreochromis niloticus*.

7. REFERENCIAS

ALFJORDEN, A.; RUANE, N. Francisellosis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). **International Council for the Exploration of the Sea (ICES)** - Identification leaflets for diseases and parasites of fish and shellfish, Leaflet No. 64, 4p. 2015.

APPLIED BIOSYSTEMS. DNA Sequencing by Capillary Electrophoresis. **Applied Biosystems Chemistry Guide**. Second Edition. 2009. Disponível em: https://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/mcb_support/documents/geraldocuments/cms_041003.pdf. Acesso em: 14 de abr. 2016.

AUSTIN, B; AUSTIN, D.A. **Bacterial fish pathogens. Disease of farmed and wild fish**. Editora Springer Dordrecht Heidelberg. New York. London. 5ª. edição. 651p. 2012.

BAKER, C.N.; HOLLIS, D.G.; THORNSBERRY, C. Antimicrobial susceptibility testing of *Francisella tularensis* with a modified Mueller-Hinton broth. *Journal of clinical Microbiology*, v.22, p.212-215. 1985.

BARROSO, R.M.; TENÓRIO, R.A.; PEDROZA FILHO, M.X.; DANIEL CHAVES WEBBER, D.C.; BELCHIOR, L.S. TAHIM, E.F.; CARMO, F.J. MUEHLMANN, L.D. Gerenciamento genético da tilápia nos cultivos comerciais. **Documentos Embrapa Pesca e Aquicultura**. Palmas, TO, 64p. 2015.

BARTHOLOMEW, K. D. A. A. J. L. Chapter 8 - *Piscirickettsia*, *Francisella* and *Epitheliocystis*. In: WOO, P. T. K. (Ed.). **Fish Diseases and Disorders**, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections. 2. Preston, UK.: CABI, v.3, cap. 8, p.302-337.2011.

BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v.42, p.517-525. 2002.

BIRKBECK, T.H.; BORDEVIK, M.; FROYSTAD, M.K.; BAKLIEN, A. Identification of *Francisella* sp. from Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Chile. **Journal of Fish Diseases**, v.30, p.505–507. 2007.

BRASIL. 2004. SECRETARIA ESPECIAL DE AQUICULTURA E PESCA. Instrução Normativa Interministerial nº 06 de 31 de maio de 2004. Estabelece as normas complementares para a autorização de uso dos espaços físicos em corpos d'água de domínio da União para fins de aqüicultura, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Seção 1, p. 6 - 15. Brasília, DF, 31 mai. 2004.

BRASIL. 2010. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2010. [Online]. *Ministério da Pesca e Aquicultura*. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/files/docs/InformacoeseEstatisticas/Boletim%20Estat%20C3%ADstico%20MPA%202010.pdf>. Acesso em: 06 de abr. 2016.

BRASIL. 2011. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2011.[Online]. *Ministério da Pesca e Aquicultura*. Disponível em: [http://www.mpa.gov.br/files/docs/Boletim MPA 2011pub.pdf](http://www.mpa.gov.br/files/docs/Boletim%20MPA%202011pub.pdf). Acesso em: 06 de abr. 2016.

BRASIL. 2015a. SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA. Consumo de pescado no Brasil está abaixo do recomendado pela OMS. Publicado em 01 de set. 2015. Disponível em: <http://sna.agr.br/consumo-de-pescado-no-brasil-esta-baixo-do-recomendado-pela-oms/>. Acesso em: 06 de jan. 2016.

BRASIL. 2015b. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 13 de 15 de julho de 2015. Publica o Subprograma de Monitoramento e Subprograma Exploratório do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes - PNCRC de 2015 para as cadeias de carnes bovina, suína, caprina, ovina, equina, coelho, aves, avestruz, de leite, pescado, mel e ovos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Seção 1, nº.136, p.5 -12. Brasília, DF, 20 jul. 2015.

BRASIL. 2015c.GLOBO RURAL. Piscicultura pode alcançar 960 mil toneladas em 2022. Publicado em 31 de mar. 2015. Disponível em: <http://revistagloborural.globo.com/Noticias/noticia/2015/03/piscicultura-pode-alcançar-960-mil-toneladas-em-2022.html>. Acesso em: 15 de abr. 2016.

BRASIL. 2016. CORREIO DE UBERLÂNDIA. Produtores querem dobrar a produção de tilápia na região. Publicado em 02 de jan. 2016. Disponível em: <http://www.correiodeuberlandia.com.br/cidade-e-regiao/produtores-querem-dobrar-a-producao-de-tilapia-na-regiao/>. Acesso em: 02 de jan.2016.

BRETT, M.E.; RESPICIO-KINGRY, L.B.; YENDELL, S.; RATARD, R.; HAND, J.; BALSAMO, G.; SCOTT-WALDRON, C.; O'NEAL, C.; KIDWELL, D.; YOCKEY, R.; SINGH, P.; CARPENTER, J.; HILL, V.; PETERSEN, K.M.; MEAD, P. Outbreak of *Francisella novicida* Bacteremia Among Inmates at a Louisiana Correctional Facility. **Clinical Infectious Diseases**, v.59, n.6, p.826–833. 2014.

BREVIK, O.J.; OTTEM, K.F.; KAMAISHI, T. WATANABE, K.; NYLUND, A. *Francisella halioticida* sp. nov., a pathogen of farmed giant abalone (*Haliotis gigantea*) in Japan. **Journal Applied of Microbiology**, v.111, p.1044-1056. 2011.

BRICKNELL, J.R.; DALMO, R.A. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. **Fish Shellfish Immunology**, v.19, p.457-472. 2005.

BRITO, J.L.S.; ROSA, R. Elaboração do mapa de solos da bacia do Rio Araguari na escala de 1:500.000. **II Simpósio Regional de Geografia “Perspectivas para o cerrado no século XXI**. Universidade Federal de Uberlândia – Instituto de Geografia. 2003. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/Mapa_Solos_Bacia_AraguariID-L6FFnePUVy.pdf. Acesso em: 06 de abr. 2016.

BUSTIN, S.A.; BENES, V.; GARSON, J.A.; HELLEMANS, J.; HUGGETT, J.; KUBISTA, M.; MUELLER, R.; NOLAN, T.; PFAFFI, M.W.; SHIPLEY, G.L.; VANDESOMPELE, J.; WITWER, C.T. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. **Clinical Chemistry**, v.55, n.4, p.611-622. 2009.

CAMUS, A.C.; DILL, J.A.; MCDERMOTT, A.J.; CLAUSS, T.M.; BERLINER, A.L.; BOYLAN, S.M.; SOTO, E. *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* infection in Indo-Pacific reef fish entering the United States through the ornamental fish trade. **Journal of Fish Diseases**, v.36, n.681–684. 2013.

CANE, P.A.; COOK, P.; RATCLIFFE, D.; MUTIMER, D.; PILLAY, D. Use of real-time PCR and fluorimetry to detect Lamivudine resistance-associated mutations in Hepatitis B virus. **Antimicrobial. Agents Chemother**, v.43, p.1600–1608. 1999.

CARDOSO, E.L.; FERREIRA, R.M.A.; PEREIRA, T.A.; CARDOSO, M.M.F. Cultivo de peixes em tanques-rede: EPAMIG/IEF. In: CARDOSO, E. L e FERREIRA, R.M.A (Editores). Cultivo de peixes em tanques-rede: desafios e oportunidades para o desenvolvimento sustentável. **EPAMIG**, Minas Gerais. p.9-22, 2005.

CHEN, S.C.; TUNG, M.C.; CHEN, S.P.; TSAI, J.F; WANG, R.S.; CHEN, S.C.; ADAMS, A. Systematic granulomas caused by a *rickettsia*-like organism in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), from southern Taiwan. **Journal of Fish Diseases**, v.17, p.591-599.1994.

CHERN, R.S; CHAO, C.B. Outbreaks of a disease caused by *rickettsia*-like organism in cultured tilapias in Taiwan. **Fish Pathology**, v.29, p.61-71.1994.

CLARRIDGE, J. E. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v.17, p.840-862. 2004.

COLQUHOUN, D.J.; DUODU, S. *Francisella* infections in farmed and wild aquatic organisms. **Veterinary Research**, p.42-47. 2011.

CREPALDI, D.V.; FARIA, P.M.C.; TEIXEIRA, E.A.; RIBEIRO, L.P.; COSTA, A.P.C.; MELO, D.C.; CINTRA, A.P.R.; PRADO, S.A.; COSTA, F.A.A.; DRUMOND, M.L.; LOPES, V.E.; MORAES, V.E. A situação da aquacultura e da pesca no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, n.3/4, p.81-85. 2006.

CYRINO, J.E.; CONTE, L.; Tilapicultura em Gaiolas: produção e economia. In: José Eurico Possebon Cyrino e Elisabeth Criscuolo Urbinati (Eds.). AquaCiência 2004: Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aqüicultura. Jaboticabal: **Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática**, cap.12, p.151-171. 2006.

DEAN, A.G.; SULLIVAN, K.M.; SOE, M.M. Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health. OpenEpi [Online]. 2013.. Disponível em: <http://www.OpenEpi.com>. Acesso em: 06 de abr. 2016.

DOLKEN, L.; SCHULLER, R.; DOLKEN, G. Quantitative detection of t(14-18)-positive cell by real-time quantitative PCR using fluorogenic probes. **Biotechniques**, v.6, p.1058-1064. 1998.

EISENSTEIN, B. I. The polymerase chain reaction: A new method of using molecular genetics for medical diagnosis. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v.322, n., p.178-183. 1990.

ELLIS, T.; NORTH, B.; SCOTT, A. P.; BROMAGE, N.R.; PORTER, M.; GADD, D. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, v.61, n.3, p.493-531. 2002.

EL-SAYED, A.F.M. Environmental requirements. **Tilapia culture**, **CABI Publishing**, Cambridge, MA, USA, p.34-46. 2006.

ENGLAND. The Fish Site. Outubro, 2014. Disponível em: <http://www.thefishsite.com/articles/1956/health-challenges-in-tilapia-culture-in-brazil/>. Acesso em: 11 de abr. 2016.

ERLICH, H. A.; GELFAND, D.; SNINSKY, J. J. Recent advances in the polymerase chain reaction. **Science**, Washington, v.252, n.5013, p.1643-1651. 1991.

FAO. 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). **World Review of fisheries and aquaculture, Part I**, p. 4. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acesso em: 06 de jan. 2016.

FAO. 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Global Aquaculture Production statistics database updated to 2013. [Online] Summary information. **Fisheries and Aquaculture Department**. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/fi/stat/Overviews/AquacultureStatistics2012.pdf>. Acesso em: 06 de abr. 2016.

FARBER, J.M. An introduction to the hows and whys of molecular typing. **Journal of Food Protection**, v.59, p.1091–1101.1996.

FARIA, R.H.S.; MORAIS, M.; SORANNA, M.R.G.S.; SALLUM, W.B. Manual de criação de peixes em viveiros. Brasília: **Codevasf**, 136p. 2013. Disponível em: <http://www.codevasf.gov.br/principal/publicacoes/publicacoes-atuais/manual-de-criacao-de-peixes-em-viveiros.pdf>. Acesso em: 23 de mar. 2016.

FDA -UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 2016. Disponível em: <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/Aquaculture/ucm132954.htm>. Acesso em: 20 de jan. 2016.

FERREIRA, R.A.R.; CAVENAGHI, A.L.; VALINI, E.D.; CORRÊA, M.R.; NEGRISOLI, E.; BRAVIN, L.F.N., TRINDADE, M.L.B.; PADILHA, F.S. Monitoramento de fitoplâncton e microcistina no reservatório da UHE Americana. **Planta Daninha**, Viçosa, v.23, n.2, p.203-214. 2005.

FIGUEIREDO, H.C.P. **Enfermidades emergentes na tilapicultura**. VI AQUISHOW, 2015. Disponível em: <http://aquishow.org.br/wp-content/uploads/2015/09/Doencas-Emergentes-Henrique-Figueiredo-Aquishow-2015.pdf>. Acesso em 15 de jan. 2016.

FUKUDA, Y.; OKAMURA, A.; NISHIYAMA, M.; KAWAKAMI, H.; KAMAISHI, T.; YOSHINGA, T. Granulomatosis of cultured three-line grunt *Parapristipoma trilineatum* caused by an intracellular bacterium. **Fish Pathology**, v.37, p.119-124. 2002.

FURLANETO, F. P. B.; AYROZA, D. M. M. R.; AYROZA, L. M. S. Custo e rentabilidade da produção de tilápia (*Oreochromis spp.*) em tanques-rede no Médio Paranapanema, estado de São Paulo, safra 2004/05. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.36, n.3, p.63-69, 2006.

GOOGLE EARTH, 2016. Disponível em: <https://www.google.com.br/intl/pt-BR/earth/>. Acesso em: 23 de mar. 2016.

GURGEL, J. J. S. Potencialidade do cultivo de tilápia no Brasil. In: Congresso Nordeste de Produção Animal, Anais... **Sociedade Nordestina de Produção Animal**. Fortaleza, p.345-352. 1998.

HALL, T.A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v.41, p.95-98. 1999.

HSIEH, C. Y.; TUNG, M.C.; TU, C.; CHANG, C.D.; TSAI, S.S. Enzootics of visceral granulomas associated with *Francisella*-like organism infection in tilapia (*Oreochromis* spp.). **Aquaculture**, v.254, n.1-4, p.129-138. 2006.

HSIEH, C.; WU, Z.B.; TUNG, M.C.; TSAI, S.S. PCR and in situ hybridization for the detection and localization of a new pathogen *Francisella*-like bacterium (FLB) in ornamental cichlids. **Diseases of aquatic organisms**, v.75, n.1, p.29–36. 2007.

HUBER, B.; ESCUDERO, R.; BUSSE, H.J.; SEIBOLD, E.; SCHOLZ H.C.; ANDA P.; SPLETTSTOESSER, W.D. Description of *Francisella hispaniensis* sp. nov., isolated from human blood, reclassification of *Francisella novicida* (Larson et al. 1955) Olsufiev et al. 1959 as *Francisella tularensis* subsp. *novicida* comb. nov. and emended description of the genus *Francisella*. **International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.60, p.1887–1896. 2010.

INNIS, M. A; GELFAND, D. H. Optimization on PCRs. In: INNIS, M. A. (Org.). **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications**. San Diego: Academic Press, 1990. cap. 1.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. “**Produção Pecuária Municipal, 2014**”. Rio de Janeiro/RJ, v. 42, 39p. 2014. Publicado em 08 de out. 2015. Disponível em: http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2014_v42_br.pdf. Acesso em: 23 de mar. 2016.

ISHIKAWA, M.M.; PÁDUA, S.B.; SATAKE, F.; MARTINS, M.L.; TAVARES-DIAS, M. Identificação morfológica de organismos semelhantes à Anaplasmataceae em monócitos de surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, n.33, p.225-228. 2011.

JACOB, D.; WAHAB, T.; EDVINSSON, B.; PETERZON, A.; BOSKANI, T.; FARHADI, L.; BARDUHN, A.; GRUNOW, R.; SANDSTRO, G. Identification and subtyping of *Francisella* by pyrosequencing and signature matching of 16S rDNA fragments. **Letters in Applied Microbiology**, v.53, p.592–595. 2011.

JANDA, J.M.; ABBOTT, S.L. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, p.2761–2764. 2007.

JEFFERY, K. R.; STONE, D.; FEIST, S. W.; VERNER-JEFFREYS, W. An outbreak of disease caused by *Francisella* sp. in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* at a recirculation fish farm in the UK. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.91, p.161-165. 2010.

KLINGER-BOWEN, R.E.C.; TAMARU, C.S.; McGOVERN-HOPKINS, K.; FOX, B.K.; ANTONIO, N.L.; MOANA, J.B.; SOTO, E. Francisellosis in Tilapia. **Center for Tropical and Subtropical Aquaculture (CTSA) Publication #158**, 5pp. 2012. Disponível em: http://www.ctsa.org/index.php/publications/ctsa_publications1. Acesso em: 20 de jan. 2016.

KUBISTA, M.; ANDRADE, J.; BENGTSSON, M.; FOROOTAN, A.; JONÁK, J.; LIND, K.; SINDELKA, R.; SJOBACK, R.; SJOGREEN, B.; STROMBOM, L.; STAHLBERG, A.; ZORIC, N. The real-time polymerase chain reaction. **Molecular Aspects of Medicine**, v.27, n.2-3, p.95-125. 2006.

KUBITZA, F. Nutrição e alimentação de tilápias – Parte 1. **Panorama da Aquicultura**, março/abril. 1999.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Editora Acqua Supre Comércio de Suprimentos para Aqüicultura Ltda. Jundiaí, 285 p. 2000.

KUBITZA, F. Tilápias na mira dos patógenos. **Panorama da Aquicultura**, v.18, n.107, p.28-37. 2008.

KUBITZA, F. Produção de tilápias em tanques de terra: estratégias avançadas no manejo. **Panorama da aquicultura**, v.19, n.115, p.14-21, set./out. 2009.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L.; ONO, E. A. Panorama da piscicultura no Brasil: Estatísticas, espécies, pólos de produção e fatores limitantes à expansão da atividade. **Panorama da Aquicultura**, v.22, n.132, p.14-25, jul./ago. 2012.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L.; ONO, E. A. Panorama da piscicultura no Brasil: A sanidade na piscicultura, do ponto de vista dos produtores e técnicos. **Panorama da Aquicultura**, v.33, n.136, p.16-26, jan./fev. 2013.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L.M.M. **Saúde e manejo sanitário na criação de tilápias em tanques-rede**. Editora Kubitza, 1ª. Edição, Jundiaí, SP, 293p. 2013.

KULKARNI, A.; MARLOWE, A.; CAIPANG, A.; KORSNES, K.; BRINCHMANN, M.F.; KIRON, V. Molecular diagnosis of francisellosis, a systemic granulomatous inflammatory disease in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. **Veterinary Research Communications**, v.35, p.67–77. 2011.

LANDER, E. S., LINTON, L. M., BIRREN, B., NUSBAUM, C., ZODY, M. C., BALDWIN, J., DEVON, K., et al Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v.409, n.6822, p.860- 921. 2001.

LEAL, A.G.; TAVARES, G.C.; FIGUEIREDO, H.C.P. Outbreaks and genetic diversity of *Francisella noatunensis* subsp *orientalis* isolated from farm-raised Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.13, n.3, p.5704-5712. 2014.

LEWIN, S.R.; VESANEN, M.; KOSTRIKIS, L.; HURLEY, A.; DURAN, M.; ZHANG, L.; HO, D.D.; MARKOWITZ, M. Use of real-time PCR and molecular beacons to detect virus replication in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals on prolonged effective antiretroviral therapy. **Journal of Virology**, v.73, p.6099-6103. 1999.

LIFE TECHNOLOGIES. 2014. Basics of real - time PCR. Real time PCR Handbook. Disponível em: <http://www.gene-quantification.com/real-time-pcr-handbook-life-technologies-update-flr.pdf>. Acesso em: 10 de abr. 2016.

LIMA, L.C. **Doenças de importância econômica em piscicultura**. VII Seminário de Aves e Suínos – AveSui, Regiões 2007 III Seminário de Aqüicultura, Maricultura e Pesca. 16p. 2007. Disponível em: [http://www.amordepeixe.com.br/download/Doencas de Importancia Economic a em Piscicultura.pdf](http://www.amordepeixe.com.br/download/Doencas_de_Importancia_Economic_a_em_Piscicultura.pdf). Acesso em: 23 de abr. 2016.

LIN, Q.; LI, N.; FU, X.; HU, Q.; CHANG, O.; LIU, L.; ZHANG, D.; WANG, G.; SAN, G.; WU, S. An outbreak of granulomatous inflammation associated with *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in farmed tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) in China. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v.33, p.1-7. 2015.

LONGHI, E.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; MULLER, E.E. Avaliação da eficácia de vacina autóctone de *Streptococcus agalactiae* inativado aplicada por banho de imersão em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.6, p.3191-3200. 2012.

MARTINS, A.M.C.R.P.F.; CATROXO, M.H.B.; HIPOLITO, M. *Francisella* spp.: a bactéria emergente responsável por massiva mortalidade na aquicultura. **Arquivos do Instituto Biológico**. p. 216. 2015.

MAUEL, M.J.; MILLER, D.L.; STYER, E.; POWDER, D.B.; YANONG, R.P.; GOODWIN, A.E.; SCHWEDLER, T.E. Occurrence of *Piscirickettsiosis*-like syndrome in tilapia in the continental United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.17, p.601-605. 2005.

MAUEL, M.J.; SOTO, E.; MORALIS, J.A.; HAWKE, J. A *piscirickettsiosis*-like syndrome in cultured Nile tilapia in Latin America with *Francisella* spp. as the pathogenic agent. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.9, p.27-34. 2007.

MAXAM, A. M. A New Method for Sequencing DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.74, n.2, p.560-564. 1977.

MIKALSEN, J.; COLQUHOUN, D. J. *Francisella asiatica* sp. nov. isolated from farmed tilapia (*Oreochromis* sp.) and elevation of *Francisella philomiragia* subsp. *noatunensis* to species rank as *Francisella noatunensis* comb. nov., sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, September 25. 2009.

MIKALSEN, J.; OLSEN, A.B.; TENGS, T.; COLQUHOUN, D.J. *Francisella philomiragia* subsp *noatunensis* subsp nov isolated from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L). **International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.57, p.1960-1965. 2007.

MOCELLIN, S.; ROSSI, C.R.; PILATI, P.; NITTI, D.; MARINCOLA, F.M. Quantitative real-time PCR: a powerful ally in cancer research. **Trends of Molecular Medicine**, v.9, n.5, p.189-195, 2003.

MONTGOMERY, D. C. **Introduction to statistical quality control**. 7th Edition. USA: John Wiley & Sons, Inc. 2013.

NGUYEN, V.V.; DONG, H.T.; SENAPIN, S.; PIRARAT, N.; RODKHUM, C. *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*, an emerging bacterial pathogen affecting cultured red tilapia (*Oreochromis* sp.) in Thailand. **Aquaculture Research**, p.1-6. 2015.

NICO, L.G.; NEILSON, M.; LOFTUS, B. 2016a. *Tilapia rendalli*. USGS Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, FL. Disponível em: <http://nas.er.usgs.gov/queries/factsheet.aspx?SpeciesID=483>. Última revisão: 15 de mar. 2012. Acesso em: 10 de abr. 2016.

NICO, L.G.; FULLER, P.; NEILSON, M. 2016b. *Oreochromis aureus*. USGS Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, FL. Disponível em: <http://nas.er.usgs.gov/queries/factsheet.aspx?SpeciesID=463>. Última revisão: 19 de jun. 2013. Acesso em: 10 de abr. 2016.

NOGA, E. J. **Fish disease: diagnosis and treatment**. 2 ed, St Louis: Mosby-Year Book, 2010.

NOGUEIRA, A.; RODRIGUES, T. Criação de tilápias em tanques-rede. **SEBRAE**, Salvador, Bahia. 23p. 2007.

NORTH, B. P.; TURNBULL, J. F.; ELLIS, T., PORTER, M. J.; MIGAUD, H.; BRON, J.; BROMAGE, N. R. The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.255, p.466-479, 2006.

NYLUND, A.; OTTEM, K. F.; WATANABE, K.; KARLSBAKK, E.; KROSSØY, B. *Francisella* sp. (Family Francisellaceae) causing mortality in Norwegian cod (*Gadus morhua*) farming. **Archives of Microbiology**, v.185, n.383-392. 2006.

OLIVEIRA, E.G.; SANTOS, F.J.S.; PEREIRA, A.M.L.; LIMA, C.B. Produção de tilápia: Mercado, espécie, biologia e recria. **Circular técnica**, n.45, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Teresina, PI, p.1-11. 2007.

OLIVEIRA, T.F.; SOUZA, L.X.; TAVARES, G.C.; FIGUEIREDO, H.C.P.; LEAL, C.A.G. Primeiro relato e diversidade genética de amostras de *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* isoladas de surtos em fazendas de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **XIII Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos**. 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/26614696>. Acesso em: 05 de jan. 2016.

ORLANDO, C.; PINZANI, P.; PAZZAGLI, M. Developments in quantitative PCR. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.36, n.5, p.255-269. 1998.

OSTLAND, V.E.; STANNARD, J.A.; CREEK, J.J.; HEDRICK, R.P.; FERGUSON, H.W.; CARLBERG, J.M.; WESTERMAN, M.E. Aquatic *Francisella*-like bacterium associated with mortality of intensively cultured hybrid striped bass *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.72, p.135-145. 2006.

OTTEM, K.F.; NYLUND, A.; KARLSBAKK, E.; FRIIS-MØLLER, A.; KROSSØY, B.; KNAPPSKOG, D. New species in the genus *Francisella* (Gammaproteobacteria; Francisellaceae); *Francisella piscicida* sp. nov. isolated from cod (*Gadus morhua*). **Archives of Microbiology**, v.188, p.547–550. 2007.

OTTEM, K.F.; NYLUND, T.E.; ISAKSEN, K.; BERGH, Ø. Occurrence of *Francisella piscicida* in farmed and wild Atlantic cod, *Gadus morhua* L., in Norway. **Journal of Fish Diseases**, v.31, p.525-534. 2008.

OTTEM, K.F.; NYLUND, A.; KARLSBAKK, E.; FRIIS-MØLLER, A.; KAMAISHI, T. Elevation of *Francisella philomiragia* subsp. *noatunensis* Mikalsen et al. (2007) to *Francisella noatunensis* comb. nov. [syn. *Francisella piscicida* Ottem et al. (2008) syn. nov.] and characterization of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* subsp. nov., two important fish pathogens. **Journal of Applied Microbiology**, v.106, p.231-1243. 2009.

PAUDEL D.; JARMAN R, LIMKITTIKUL K, KLUNGTHONG C, CHAMNANCHANUNT S, NISALAK A, et al. Comparison of real-time SYBR green dengue assay with real-time taqman RT-PCR dengue assay and the conventional nested PCR for diagnosis of primary and secondary dengue infection. **North American Journal of Medical Sciences**, v.3, n.10, p.478-485. 2011.

PÉREZ LJ, DÍAZ DE ARCE H, TARRADAS J, ROSELL R, PERERA CL, MUÑOZ M, et al. Development and validation of a novel SYBR Green real-time RT-PCR assay for the detection of classical swine fever virus evaluated on different real-time PCR platforms. **Journal of Virological Methods**, Jun; v.174, n.1-2, p.53-59. 2011.

RAMOS-PAYÁN, R.; AGUILAR-MEDINA, M.; ESTRADA-PARRA, S.; GONZÁLEZ-y-MERCHAND, J.A.; FAVILA-CASTILLO, L.; MONROY-OSTRIA, A.; ESTRADA-GARCIA, I.C.E. Quantification of cytokine gene expression. Using a economical real-time polymerase chain reaction method based on SYBR® Green. **Scandinavian Journal of Immunology**, v.57, p.439-445. 2003.

RAZAK, N. **Alien fish species in malaysian waters**. 2014. Disponível em: <http://www.fishyology.com/2014/04/alien-fish-species-22-apr-2014.html>. Acesso em: 10 de abr. 2016.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2011.

ROCHA, I.; RODRIGUES, J. A aquicultura e a oferta mundial de proteína de origem animal. **Associação Brasileira de Criadores de Camarão**. Postado em 5 de mar. 2015. Disponível em: <http://abccam.com.br/site/a-aquicultura-e-a-oferta-mundial-de-proteinas-de-origem-animal/>. Acesso em: 10 de abr. 2016.

ROMANO, L.A.; SAMPAIO, L.A.; TESER, B.M. Micobacteriose por *Mycobacterium marinum* em “linguado” *Paralichthys orbignyanus* e em “barber goby” *Elacatinus figaro*: diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, p.254-258. 2012.

RUANE, N.M.; BOLTON-WARBERG, M.; RODGER, H.D.; COLQUHOUN, D.J.; GEARY, M.; McCLEARY, J.; O’HALLORAN, K.; MAHER, K.; O’KEEFFE, D.; MIRIMIN, L.; HENSHILWOOD, K.; GEOGHEGAN, F.; FITZGERALD, R.D. An outbreak of francisellosis in wild-caught Celtic Sea Atlantic cod, *Gadus morhua* L., juveniles reared in captivity. **Journal of Fish Diseases**, v.38, p.97-102. 2015.

RYAN, K.J.; RAY, C.G. **Sherris Medical Microbiology**. 4th ed. McGraw Hill. p.488-490. 2004.

SAIKI, R.K.; GELFAND, D.H; STOFFEL, S.; SCHARF, S.J.; HIGUCHI, R.; HORN, G.T.; MULLIS, K.B.; ERLICH, H.A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, v.239, n.4839, p.487-491. 1988.

SAMBROOK, J.; GREEN, M.R. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 4th edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. 2012.

SANGER, F.; AIR, G.M.; BARRELL, B.G.; BROWN, N.L.; COULSON, A.R.; FIDDES, C.A.; HUTCHISON, C.A.; SLOCOMBE, P.M.; SMITH, M. Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA. **Nature**, v.24, n.265, p.687-695. 1977.

SANGER, F.; COULSON, A. R. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. **Journal of Molecular Biology**, v.94, n.3, p.441-448. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1100841>. Acesso em: 15 de abr. 2016.

SCHEINERT, P.; BEHRENS, B.; KAHLE, D. Optimizing DNA Amplification Protocols using the Eppendorf® Mastercycler® . Eppendorf North America, Apr. 8. 2003. Disponível em: http://www.eppendorfna.com/applications/PCR_appl_protocolsMC.asp> Acesso em: 13 de abr. 2016.

SCHMITTGEN, T.D.; LIVAK, K.J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. **Nature Protocols**, v.3, n.6, p.1101-1108. 2008.

SCHRALLHAMMER, M.; SCHWEIKERT, M.; VALLESI, A.; VERNI, F.; PETRONI, G. Detection of a Novel Subspecies of *Francisella noatunensis* as Endosymbiont of the Ciliate Euplotes raikovi. **Microbial Ecology**, v.61, p.455–464. 2011.

SCHROEDER, G.L. Stable isotope ratios as naturally occurring tracers in the aquaculture food web. **Aquaculture**, v.30, p.203-210. 1983.

SEEGERS, L. *Tilapia rendalli*.1999. Disponível em: <http://www.fishbase.org>. Acesso em: 10 de abr. 2016.

SOTO, E.; HAWKE, J.P.; FERNANDEZ, D.; MORALES, J.A. *Francisella* sp. an emerging pathogen of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in Costa Rica. **Journal of Fish Diseases**, v.32, p.713-722. 2009a.

SOTO, E.; FERNANDEZ, D.; HAWKE, J.P. Attenuation of the fish pathogen *Francisella* sp by mutation of the iglC* gene. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.21, p.140-149. 2009b.

SOTO, E.; BOWLES, K.; FERNANDEZ, D.; HAWKE, J.P. Development of a real-time PCR assay for identification and quantification of the fish pathogen *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.89, p.199-207. 2010.

SOTO, E.; BAUMGARTNER, W.; WILES, J.; HAWKE, J.P. *Francisella asiatica* as the causative agent of piscine francisellosis in cultured tilapia (*Oreochromis* sp.) in the United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.23, p.821-825. 2011.

SOTO, E.; ILLANES, O.; HILCHIE, D.; MORALES, J.A.; SUNYAKUMTHORN, P.; HAWKE, J.P.; GOODWIN, A.E.; RIGGS, A. ; YANONG, R.P.; POUDE, D.B.; FRANCIS-FLOYD, R.; ARAUZ, M.; BOGDANOVIC, L.; CASTILLO-ALCALA, F. Molecular and immunohistochemical diagnosis of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.24, n.5, p.840-845. 2012.

SOTO, E.; McGOVERN-HOPKINS, K.; KLINGER-BOWEN, R.; FOX, B.K.; BROCK, J.; ANTONIO, N.; WAAL, Z.; RUSHTON, S.; MILL, A.; TAMARU, C.S. Prevalence of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in cultured tilapia on the island of Oahu, Hawaii. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.25, n.2, p.104-109. 2013a.

SOTO, E.; KIDDA, S.; MENDEZA, S.; MARANCIK, D.; REVANA, F.; HILCHIE, D.; CAMUS, A. *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* pathogenesis analyzed by experimental immersion challenge in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Veterinary Microbiology**, v.164, p.77-84. 2013b.

SOTO, E.; BROWN, N.; GARDENFORS, Z.O.; YOUNT, S.; REVAN, F.; FRANCIS, S.; KEARNEY, M.T.; CAMUS, A. Effect of size and temperature at vaccination on immunization and protection conferred by a live attenuated *Francisella noatunensis* immersion vaccine in red hybrid tilapia. **Fish & Shellfish Immunology**, v.41, n.2, p.593-599. 2014.

SOTO, E.; HALLIDAY-SIMMONDS, I.; FRANCIS, S.; KEARNEY, M.T.; HANSEN, J.D. Biofilm formation of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*. **Veterinary Microbiology**, v.181, p.313-317. 2015.

SOUZA, S.M.G.; MATHIES, V.D.; FIORAVANZO, R.F. *Off-flavor* por geosmina e 2-Metilisoborneol na aquicultura. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n.2, p.835-846. 2012.

STIASNY, M.L.J. 2003. Disponível em: <http://www.fishbase.se/Photos/PicturesSummary.php?StartRow=2&ID=2&what=species&TotRec=18>

TANIGUCHI, F.; KATO, H.C.A.; TARDIVO, T.F. A. Definições e estrutura Tanque-rede. **EMBRAPA Pesca e Aquicultura**. Projeto Peixe +. Out. 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1002743/definicoes-e-estrutura-tanque-rede>. Acesso em: 23 de mar. 2016.

TAVARES, G. C.; PALHARES, M. M. Epidemiologia, diagnóstico e controle das principais bacterioses que afetam a tilapicultura no Brasil. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**. Ano XXI, Jul./ago./set. 2011.

TAYLOR, C.; FORD, K.; CONNOLLY, B.A.; HORNBY, D.P. Determination of the order of substrate addition to MspI DNA methyltransferase using a novel mechanism-based inhibitor. **The Biochemical Journal**, London, v.291, n.2, p.493-504, Apr. 15. 1993.

TOENSHOFF, E.R.; KVELLESTAD, A.; MITCHELL, S.O.; STEINUM, T.; FALK, K.; COLQUHOUN, D.J.; HORN, M. A novel betaproteobacterial agent of gill epitheliocystis in seawater farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Plos One** 7, e32696. 2012.

TUCKER, S. *Off-flavor* problems in aquaculture. **Reviews in Fisheries Science**. Philadelphia, v.8, n.1, p.45-88. 2000.

UNITED STATES FISH AND WILDLIFE SERVICE. Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Ecological Risk Screening Summary. 2011. Disponível em: <https://www.fws.gov/Fisheries/ANS/erss/highrisk/Oreochromis-mossambicus-ERSS-revision-July-2015.pdf>. Acesso em: 20 mar.2016.

WONG, M.L.; MEDRANO, J.F. Real-time PCR for mRNA quantitation. **Biotechniques**, v.39, n.1, p.75-85. 2005.

VELASCO, A.J.; GÓMEZ, J.R.; AGIRRE, X.; BARRIOS, M.; NAVARRO, G.; ENÉRIZ, E.S.J.; CORDEU, L.; GÁRATE, L.; CASTILLEJO, J.A.; PROSPER, F.; TORRES, A.; HEINIGER, A.I. PCR en tiempo real, una nueva herramienta para la toma de decisiones clínicas. **Haematologica edición española**, v.91, n.1, p.27-34. 2006.

VENTER, J. C.; ADAMS, M. D.; MYERS, E. W.; LI, P. W.; MURAL, R. J.; SUTTON, G. G.; SMITH, H. O. et al. The sequence of the human genome. **Science**, New York, N.Y., v.291, n.5507, p.1304-1351. 2001.

WONG, M.L.; MEDRANO, J.F. Real-time PCR for mRNA quantitation. **Biotechniques**, v.39, n.1, p.75-85. 2005.

ZANOLO, R.; YAMAMURA, M. H. Parasitas em tilápias do Nilo criadas em sistema de tanques-rede. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.27, n.2, p. 281-288, abr./jun. 2006.

ZANIBONI-FILHO, Evoy. Piscicultura das espécies exóticas de água doce. In: POLI. **Aquicultura Experiências Brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa, p. 309-336. 2004.