

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

**INFECÇÕES PARASITÁRIAS E MICROBIANAS NA
PRODUÇÃO DO PACU *Piaractus mesopotamicus* E DO HÍBRIDO
PATINGA PROCEDENTES DA REGIÃO NOROESTE
DO ESTADO DE SÃO PAULO**



Lidiane Franceschini

**Botucatu
2012**

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

**INFECÇÕES PARASITÁRIAS E MICROBIANAS NA
PRODUÇÃO DO PACU *Piaractus mesopotamicus* E DO HÍBRIDO
PATINGA PROCEDENTES DA REGIÃO NOROESTE
DO ESTADO DE SÃO PAULO**

Lidiane Franceschini

Orientador: Prof. Adj. Reinaldo José da Silva

Coorientador: Pesq. Dr. Sérgio Henrique Canello Schalch

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências –
UNESP – Campus de Botucatu, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas, Área de
concentração: Zoologia.

**Botucatu
2012**

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

Franceschini, Lidiane.

Infecções parasitárias e microbianas na produção do pacu *Piaractus mesopotamicus* e do híbrido patinga procedentes da região Noroeste do Estado de São Paulo / Lidiane Franceschini. – Botucatu : [s.n.], 2012

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

Orientador: Reinaldo José da Silva

Coorientador: Sérgio Henrique Canello Schalch

Capes: 21302022

1. Peixe - Parasito. 2. Peixe – Criação. 3. Microbiologia aquática.
4. São Paulo (Estado)

Palavras-chave: Helmintos; Infecções microbianas; Mixosporídeos;
Piscicultura; Protozoários; Sanidade.

Dedicatória

*“Universo eterno e infinito que por si se move,
Que cria e recria sempre estrelas e planetas.
Como agiu para formar a Terra
com mares, montes e vales e tudo mais?*

*As forças atrativas são universais.
Unindo partículas, prótons e elétrons,
formaram moléculas de que o mundo é feito,
e juntaram aquelas que geraram a vida.*

*Protocélulas, bactérias e fungos
desenvolveram a vida e ordenaram os genes,
que, por fusão, mutação e reprodução,
criaram as espécies todas que povoam a Terra.*

*A evolução fez campos, florestas e flores
e animais que nadam, correm ou voam,
que sabem cantar e cuidar da prole
ou pensam – como nós, os homens.*

*Você, eu e o carinho que nos une,
Somos apenas parte desse grande mundo
E da humanidade sã, que vive solidária;
Onde nós, com filhos, parentes e amigos,
estamos ligados por um amor profundo.”*

(Luís Rey – Livro: Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais)

*Dedico este trabalho a toda a minha família e amigos, que me
fortalecem a cada dia. Amo vocês!*

"A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original."

(Albert Einstein)

Agradecimentos

Agradeço a Deus, pela força, perseverança e fé em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, José Antônio e Aparecida Maria, por todo amor, paciência, carinho, compreensão e incentivo aos estudos, desde os meus primeiros anos de vida.

A toda minha família, em especial, aos meus irmãos Greicy, Jéssica, Nicolás e a pequena Júlia, e ao meu sobrinho Guilherme, por toda alegria, amor, força e afeto que me proporcionam. Obrigada por compreenderem minha ausência...

Ao Igor, por todo amor, carinho, respeito e compreensão que me dedica todos os dias.

A professora e amiga Maria Conceição Zocoller Seno, que despertou em mim o interesse pela pesquisa, e que sempre será um exemplo de conduta em minha vida pessoal e acadêmica!

Ao meu orientador e amigo Reinaldo José da Silva, por todo apoio, credibilidade e confiança durante todos estes anos de convívio! Espero que sejam apenas os primeiros anos dentre muitos outros que virão!

Aos meus amigos e imprescindíveis colaboradores Fabiana Garcia, Sérgio Henrique Canello Schalch, Daiane Mompeam Romera, Kátia Suemi Gozi, Eduardo Makoto Onaka, Pedro Guilherme Panin Candeira e Fernando Stopato da Fonseca, por todo apoio técnico e pessoal, e por tornarem meus dias de trabalho mais felizes! Saudade de todos vocês!

Aos funcionários da APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - Pólo Regional do Noroeste Paulista, por todo apoio e acolhimento durante as coletas.

Aos meus amigos do laboratório LAPAS e do Departamento de Parasitologia, com os quais convivo mais do que com a própria família!

A minha amiga e colaboradora há muitos anos Aline Cristina Zago, com quem compartilho o mérito deste trabalho.

Ao CNPq (Processo: 577649/2008-6), CAPES e FAPESP (Processo: 2010/01417-4), pelo apoio científico e financeiro para realização da pesquisa.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que me apoiaram, incentivaram e ajudaram de alguma forma na concretização desse trabalho.

Sumário

<i>Resumo</i>	01
<i>Abstract</i>	02
<i>Introdução Geral</i>	03
<i>Epidemiologia na cadeia produtiva de peixes</i>	05
<i>Principais patógenos de peixes criados em pisciculturas continentais</i>	07
<i>Ocorrência de patógenos em peixes do gênero Piaractus</i>	17
<i>Caracterização de algumas propriedades produtoras de pacu e patinga na região Noroeste do Estado de São Paulo</i>	19
<i>Referências Bibliográficas</i>	23
<i>Artigo 1: Infecções parasitárias do pacu Piaractus mesopotamicus e do híbrido patinga cultivados no Noroeste Paulista, Brasil</i>	30
<i>Resumo</i>	31
<i>Abstract</i>	32
<i>Introdução</i>	33
<i>Material e métodos</i>	33
<i>Resultados</i>	37
<i>Discussão</i>	55
<i>Referências bibliográficas</i>	64
<i>Artigo 2: Infecções microbianas na produção de Piaractus mesopotamicus e do híbrido patinga no Noroeste Paulista, Brasil</i>	69
<i>Resumo</i>	70
<i>Abstract</i>	71
<i>Introdução</i>	72
<i>Material e métodos</i>	73
<i>Resultados</i>	75
<i>Discussão</i>	82
<i>Referências bibliográficas</i>	88

Resumo

O desenvolvimento das atividades relacionadas à aquicultura tem aumentado consideravelmente a relevância dos estudos sobre parasitas e outros patógenos de organismos aquáticos, principalmente, daqueles hospedeiros com potencial para o cultivo e comercialização. O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de infecções parasitárias e microbianas na produção de pacu *Piaractus mesopotamicus* e do híbrido "patinga" (*P. mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*) procedentes da região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. Três pisciculturas foram amostradas bimestralmente, de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011: A - Reprodução e Larvicultura (pacu/patinga), B - Engorda (patinga) e C - Pesque-pague (pacu/patinga), das quais 35 peixes foram submetidos à análise parasitológica e 21 à análise microbiológica. Foram encontrados os parasitas: dactilogirídeos (Monogenea); *Trichodina* spp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Chilodonella* sp. (Protozoa); *Myxobolus* spp. e *Henneguya* spp. (Myxozoa); *Rondonia rondoni* e *Contracaecum* sp. (Nematoda); e *Dolops carvalhoi* (Crustacea). Dentre os peixes analisados, 62,9% de "A" e 100% de "B" e "C" estavam infectados/infestados por pelo menos uma espécie de parasita. Pacus (n=44) apresentaram maior suscetibilidade a infestações por *Anacanthorus penilabiatus*, e as patingas (n=61), por *Mymarothecium viatorum* (p<0,05). Na análise microbiológica, 23,8% dos peixes de "A" e "B" e 33,3% da propriedade "C" estavam infectados com pelo menos um gênero de bactéria. A sazonalidade influenciou as infestações por *Trichodina* spp., *A. penilabiatus* e infecções pela bactéria *Enterobacter* sp. em patingas (p<0,05). No antibiograma, cepas de *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas maltophilia* e *Aeromonas* sp. apresentaram resistência a todos antibióticos beta-lactâmicos testados, bem como para a tetraciclina. *Pseudomonas* sp. apresentou frequência de resistência de 66,7%, *S. maltophilia* de 75% e *Aeromonas* sp. 25%, ressaltando-se a importância da prescrição correta dos antibióticos na aquicultura e sua forma de administração, a fim de prevenir o desenvolvimento de cepas resistentes aos antibióticos disponíveis. A profilaxia e cuidados durante o manejo (alimentar, transporte e estocagem), associados ao monitoramento da qualidade de água reduzem o estresse o qual os peixes cultivados estão submetidos, sendo medidas imprescindíveis para o controle de patógenos.

Palavras-chaves: parasitas; infecções microbianas; piscicultura; sanidade.

Abstract

The development of activities related to aquaculture has considerably increased the relevance of studies on parasites and other pathogens of aquatic organisms, especially those with potential for production and marketing. The aim of this study was to evaluate the occurrence of parasitic and microbial infections in the "pacu" *Piaractus mesopotamicus* and hybrid "patinga" (*P. mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*) from the Northwest of São Paulo State, Brazil. Fishes from three fish farms were evaluated every two months: A - Reproduction and larviculture (pacu / patinga), B - Growout (patinga) and C - Fee-fishing property (pacu / patinga). Fishes from each fish farm were collected from February 2010 to February 2011 for parasitological (n = 35 per property) and microbiological (n = 21 per property) analysis. The parasites found were: Dactylogyridae (Monogenea), *Trichodina* spp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Chilodonella* sp. (Protozoa), *Myxobolus* spp., *Henneguya* spp. (Myxozoa), *Rondonia rondonia*, third stage larvae of *Contracaecum* sp. (Nematoda), and *Dolops carvalhoi* (Crustacea). Among the fishes examined, 62.9% from "A" and 100% from "B" and "C" were infected / infested with at least one parasite species. Pacu (n = 44) showed higher susceptibility to infestations caused by *Anacanthorus penilabiatus* and patinga (n = 61) by *Mymarothecium viatorum* (p < 0.05). In the microbiological analysis, 23.8% of fishes from "A" and "B" properties and 33.3% of fish from the property "C" were infected with at least one bacteria species. Seasonality influenced *Trichodina* spp. and *A. penilabiatus* infestations and infection caused by *Enterobacter* sp. in patingas (p < 0.05). In antibiogram test, strains of *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas maltophilia* and *Aeromonas* sp. were resistant to all beta-lactam antibiotics tested, and to tetracycline. The frequency of resistance of *Pseudomonas* sp., *S. maltophilia* and *Aeromonas* sp. were 66.7%, 75% and 25%, respectively, highlighting the importance of correct prescription of antibiotics in aquaculture and its administration form in order to prevent the development of resistant strains to available antibiotics. The prevention and care during fish handling (nutrition, transport and storage) associated with monitoring of the quality of water can reduce the stress which the farmed fishes are submitted, which is an essential measure to pathogens control.

Key words: parasites; parasitic infections, microbial infections; fish farm; fish health.

Introdução geral

Atualmente são conhecidas aproximadamente 28.000 espécies de peixes, das quais, 13.000 são espécies dulcícolas (Lowe-McConnell, 1999). A maior parte desta riqueza e diversidade encontra-se em águas tropicais, particularmente nas águas doces neotropicais, habitadas por 4.475 espécies válidas de peixes, podendo chegar a mais de 6.000 se incluídas as novas espécies já reconhecidas por especialistas, porém ainda não descritas (Lowe-McConnell, 1999; Reis *et al.*, 2003; Nelson, 2006). A fauna de peixes de água doce do Brasil é a mais rica do mundo, com cerca de 2.587 espécies, existindo ainda muitas desconhecidas (Buckup *et al.*, 2007).

Formado por 8.400 km de costa marítima e 5.500.000 hectares em reservatórios de águas doces, o Brasil comporta aproximadamente 12% da água doce disponível no planeta (Brasil, 2009). A disponibilidade de recursos hídricos, o clima extremamente favorável, a mão-de-obra abundante, geração e difusão de tecnologia, disponibilidade de insumos e a crescente demanda por pescado no mercado interno têm contribuído para alavancar a aquicultura e, sobretudo, a piscicultura no país (Kubitza, 2007).

O termo aquicultura refere-se a produção de organismos aquáticos em cativeiro, tais como peixes, crustáceos, moluscos, quelônios e anfíbios. Pode ser realizado no mar (maricultura) ou em águas continentais (aquicultura continental) (Brasil, 2007). A produção de pescado estimada no Brasil no ano de 2007 foi de 1.072.226,0 toneladas, sendo 210.644,5 toneladas (19,6%) produzidas pela aquicultura continental; destas, 209.812,0 toneladas se refere apenas a produção de peixes de água doce (Brasil, 2007).

A produção da aquicultura continental no Estado de São Paulo apresenta-se em crescimento significativo e responde pela segunda maior produção de peixes de água doce do Brasil, com um total de 23.209,0 toneladas/ano, representando 65,9% da produção total desta região (Brasil, 2007). Ainda, a região Noroeste do Estado de São Paulo é considerada promissora para o desenvolvimento da aquicultura, pois, além do clima favorável, conta com grande potencial hídrico (Barros, 2009).

A partir da década de 1.980, o Brasil apresentou grande avanço em relação ao desenvolvimento de pesquisas e o surgimento de novas técnicas de criação em piscicultura, que ampliaram as alternativas referentes às espécies e linhagens de peixes a serem criadas,

como é o caso do *Piaractus mesopotamicus*, conhecido popularmente como pacu (Genovez *et al.*, 2008) e do híbrido patinga, resultado do cruzamento entre a fêmea (F1) de *P. mesopotamicus* e o macho (M1) de pirapitinga *Piaractus brachypomus*. A hibridação interespecífica é uma das ferramentas cada vez mais difundida na aquicultura, visando o aumento da produtividade através da formação de linhagens obtidas por meio de técnicas de biotecnologia e manipulação genética de peixes cultivados (Hubbs, 1955).

Dados referentes à estatística pesqueira do país mostram que o pacu, a pirapitinga, o tambaqui *Colossoma macropomum*, e os diversos híbridos resultantes do cruzamento entre espécies nativas, até o momento, são os únicos peixes com expressiva importância econômica na piscicultura brasileira (Brasil, 2007; Kubitzka *et al.*, 2007). A produção de pacu e seus híbridos tem apresentado uma tendência crescente nas pisciculturas brasileiras, como resultado do desenvolvimento de pesquisas que visam o aprimoramento das técnicas de produção de peixes em geral, sobretudo de espécies nativas. No Estado de São Paulo, em 2007, a produção de peixes nativos dos gêneros *Colossoma* e *Piaractus*, bem como a de seus híbridos foi de 4.594 toneladas, sendo que a produção de pacu representou cerca de 2.114,0 toneladas (Brasil, 2007).

O pacu, *P. mesopotamicus*, e a pirapitinga, *P. brachypomus*, são peixes dulcícolas, onívoros, alimentando-se essencialmente de folhas, caules, flores, frutos e sementes, mas quando disponível no ambiente, podem também ingerir insetos, aracnídeos, moluscos e outros peixes (Urbinati *et al.*, 2010; Froese & Pauly, 2011). Ambas as espécies são representantes da superordem Ostariophysi, na qual estão incluídos os peixes de maior valor comercial na pesca e na piscicultura brasileiras (Urbinati *et al.*, 2010; Froese & Pauly, 2011). Pertencem a ordem Characiformes, família Characidae, que apresenta o maior número de espécies descritas dentro da ordem em questão, na qual destaca-se o gênero *Piaractus* (Urbinati *et al.*, 2010).

A pirapitinga é originária das bacias dos rios Amazonas e Orinoco, na América do Sul (Froese & Pauly, 2011). Já o pacu é uma espécie originária da Bacia do Prata, podendo ser encontrado nas Bacias do Paraná, Paraguai e Uruguai. É uma das espécies mais estudadas no Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, e recebe os nomes de caranha, pacu caranha ou pacu-guaçu (Urbinati *et al.*, 2010; Froese & Pauly, 2011).

Apesar das semelhanças entre as duas espécies, o pacu possui uma importância comercial maior, uma vez que, dentre as espécies que compõem a ictiofauna brasileira, esta é a que mais apresenta informações técnicas para a piscicultura, além de apresentar ótimo valor de mercado e preferência popular nas regiões que ocorre em abundância (Silva, 1985). Ademais, apresenta características rústicas, precocidade sexual, carne saborosa, ótima taxa de crescimento e reprodução e, por aceitar o arraçoamento, se destaca como excelente para o cultivo em sistemas intensivos (Silva, 1985; Chabalin *et al.*, 1988; Froese & Pauly, 2011).

Epidemiologia na cadeia produtiva de peixes

O aumento da atividade pesqueira observado nas últimas décadas implicou no cultivo destes animais de acordo com o modelo intensivo de produção, que visa alta densidade de estocagem e máxima produção. Neste sistema de criação, é comum observar-se problemas relacionados ao manejo dos animais, má qualidade de água, questões nutricionais e outras, que atuam como fatores estressantes, predispondo os peixes às enfermidades infecciosas e parasitárias (Takemoto *et al.*, 2004). Sendo assim, entende-se que o sucesso destas explorações depende de vários fatores, dos quais se destaca a condição sanitária dos peixes a serem criados. Numerosos exemplos demonstram que as pisciculturas só podem ter sucesso em sua atividade se sua gestão levar em consideração os aspectos sanitários nas várias vertentes da profilaxia, do diagnóstico e da terapêutica, mantendo o equilíbrio da relação parasita-hospedeiro-ambiente (Luque, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008).

A pesca esportiva contribuiu sobremaneira para o desenvolvimento da piscicultura brasileira, principalmente por meio de empreendimentos conhecidos como “pesque-pague” (Schalch, 2002). No Estado de São Paulo existem cerca de 1500 “pesque-pague”, onde são encontradas inúmeras espécies de peixes (Kitamura *et al.*, 1999). Este tipo de empreendimento geralmente não produz os peixes que consome, sendo então abastecidos por pisciculturas que criam alevinos de várias espécies adequadas à pesca esportiva, que após engorda são repassados aos “pesque-pagues” (Ostrensky & Boeger, 1998). Assim, o transporte de peixes entre as pisciculturas que fazem parte da cadeia produtiva, atua como elemento estressante, uma vez que os animais ficam expostos à baixa concentração de oxigênio dissolvido na água, alta concentração de amônia, variações bruscas de temperatura e pH, predispondo-os à várias

enfermidades parasitárias e infecciosas (Martins *et al.*, 2000, 2002). Ademais, a transferência dos peixes, possui, ainda, importância do ponto de vista epidemiológico, uma vez que pode atuar como elemento disseminador de agentes com potencial patogênico (Martins *et al.*, 2002).

Dados sobre a epidemiologia na cadeia produtiva de peixes são escassos, dificultando a implementação de técnicas de cultivo e manejo que possam reduzir a necessidade de intervenção sanitária para controle de doenças (Ostrensky & Boeger, 1998). O aumento da suscetibilidade às enfermidades parasitárias e infecciosas causado pelo transporte e manejo dos animais é responsável por grandes prejuízos na piscicultura, uma vez que pode resultar em altas taxas de mortalidade (Luque, 2004; Takemoto *et al.*, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008). Além disso, sabe-se que alguns patógenos que acometem os peixes podem ser transmitidos ao ser humano, constituindo-se em problema de saúde pública (Esteves & Sant'Anna, 2006).

A grande maioria dos organismos capazes de causar doenças em organismos aquáticos é oportunista, ou seja, normalmente habita os sistemas aquáticos e convive em equilíbrio com os peixes sem causar danos (Pavanelli *et al.*, 2008). No entanto, devido ao desequilíbrio da relação parasita-hospedeiro-ambiente, estes organismos passam a agir de forma patogênica, causando infecções/infestações que podem resultar em mortalidade.

Vários fatores podem facilitar a ocorrência de infecções/infestações por patógenos, tais como: má nutrição, qualidade de água inadequada (baixo oxigênio dissolvido e elevados níveis de amônia tóxica e nitrito), excessivo acúmulo de resíduos orgânicos nos tanques e viveiros, mudanças bruscas na temperatura, transporte, manejo inadequado, entre outros fatores que possam expor os animais ao estresse (Ostrensky & Boeger, 1998). O estresse reduz a capacidade de resposta imunológica dos peixes, tornando-os mais suscetíveis a infecções/infestações (Val *et al.*, 2004).

Ademais, a ocorrência de patógenos, em geral, pode sofrer influência da sazonalidade. Após o inverno (período seco), ocorre a elevação da temperatura, favorecendo uma rápida multiplicação de alguns parasitas, como é o caso de algumas espécies de protozoários ciliados, que podem causar sérias infestações nos peixes ainda não recompostos do estresse causado pelas baixas temperaturas observadas no período seco (Takemoto *et al.*, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008).

O monitoramento do estado de saúde dos peixes é fundamental para indicar as condições de saúde dos mesmos, permitindo assim, o diagnóstico precoce dos parasitas e microrganismos, garantindo a produção de animais saudáveis e evitando perdas na atividade. Desta forma, o acompanhamento da qualidade de água durante o período de criação é de extrema necessidade, para que haja uma correta identificação de eventuais alterações no ambiente que possam ser favoráveis para o desenvolvimento de enfermidades.

O desenvolvimento de técnicas profiláticas é objeto de interesse comum, mas passa pela necessidade de diagnóstico da situação epidemiológica e sanitária dos estabelecimentos de criação para que se possa interferir de forma eficiente no processo. Por isso, entende-se que o monitoramento de criatórios é relevante para que se conheça a fauna parasitária e microbiana, a intensidade de infecção/infestação e a variação sazonal das parasitoses e infecções microbianas, bem como a suscetibilidade das espécies hospedeiras (Schalch, 2002; Esteves & Sant'Anna, 2006).

Principais patógenos de peixes criados em pisciculturas continentais

O aumento significativo das atividades relacionadas à aquicultura, observado no Brasil e no mundo, tem aumentado consideravelmente a relevância dos estudos relacionados com parasitas e outros patógenos de organismos aquáticos, principalmente daqueles hospedeiros com potencial para o cultivo e para a comercialização. As parasitoses e infecções microbianas são uma das maiores causas de perdas nas pisciculturas industrial e esportiva, sendo de maior relevância na região Neotropical, pelas características climáticas pertinentes a 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). A seguir, são abordados os principais grupos de patógenos de peixes de água doce com potencial para piscicultura.

Protozoários

São descritos na literatura uma série de protozoários parasitas de pele e brânquias que, em situações inadequadas de cultivo (má qualidade de água, alta densidade de estocagem,

manejo inadequado e oscilações térmicas), podem provocar danos a saúde dos peixes em cativeiro e, conseqüentemente, perdas econômicas em toda cadeia produtiva.

Os protozoários de maior importância para pisciculturas são: *Piscinoodinium pillulare*, *Ichthyophthirius multifiliis*, tricotrídeos (sobretudo os do gênero *Trichodina*), *Epistylis* spp. e *Chilodonella* spp. (Pavanelli *et al.*, 2008)

Piscinoodinium pillulare é responsável por grandes prejuízos econômicos em pisciculturas, sobretudo, nas situadas em regiões tropicais. Não apresenta especificidade parasitária, o que favorece a ocorrência de infestações maciças. Invadem o tegumento e brânquias dos hospedeiros, podendo causar hemorragias petequiais no tegumento, degeneração e necrose das células, além de inflamação. Nas brânquias podem ocorrer hiperplasia celular e fusão das lamelas secundárias, causando dificuldade respiratória (Pavanelli *et al.*, 2008).

Protozoários ciliados são comumente relatados em peixes de água doce criados em pisciculturas. *Ichthyophthirius multifiliis* é considerado por muitos autores, o protozoário responsável pelos maiores prejuízos em pisciculturas de água doce, em nível mundial (Luque, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008). Apesar de normalmente ser citado como ectoparasita, localiza-se subepidêrmicamente, apresentando aparência de pequenos pontos brancos na pele e nas brânquias dos peixes, causando uma doença chamada ictiofitiríase, também conhecida como “doença dos pontos brancos” (Eiras, 1993). O corpo do parasita adulto é arredondado, envolvido por cílios, e apresenta micronúcleo e um grande macronúcleo em forma de ferradura (Cheng, 1986). É encontrado principalmente em ambientes onde ocorrem oscilações térmicas bruscas ou que possuem qualidade da água inadequada, provocando estresse nos peixes, tornando-os suscetíveis a infestações.

Os tricotrídeos são os protozoários parasitas mais comumente encontrados em peixes, sendo os representantes do gênero *Trichodina* os de maior ocorrência em pisciculturas no mundo (Pavanelli *et al.*, 2008). Locomovem-se por movimentos giratórios, causando injúrias na pele dos peixes, facilitando também, a penetração de agentes secundários, como fungos e bactérias, podendo causar a morte do hospedeiro (Kubitza, 2000). São oportunistas e fixam-se na pele, nadadeiras e brânquias dos peixes, alimentando-se através de filtração do material orgânico presente na água (Heckmann, 1996; Pavanelli *et al.*, 2008). Assim, estes protozoários

podem ser encontrados em tanques de cultivo ou aquários e proliferam-se em águas com excesso de material em decomposição (Madsen *et al.*, 2000). *Trichodina* spp. possuem ciclo de vida direto, reproduzindo-se por fissão binária (Cheng, 1986), o que facilita ainda mais a transmissão, principalmente em tanques e viveiros com alta densidade de estocagem (Pavanelli *et al.*, 2008). Possuem uma estrutura de fixação formada por dentículos, dispostos em formato circular que permite melhor aderência ao hospedeiro. A diferenciação das espécies é feita com base no número, medida e forma destes dentículos.

Chilodonella spp. são ciliados de corpo achatado, oval ou cordiforme, de grandes dimensões, podendo ser encontrados na superfície ou brânquias de qualquer espécie de peixe de água doce (Pavanelli *et al.*, 2008). Possuem capacidade de se adaptar a diversos ambientes, podendo encistar-se devido a condições ambientais desfavoráveis.

Ciliados sésseis e coloniais do gênero *Epistylis* são encontrados fixos na superfície do corpo e brânquias dos peixes, capaz de provocar produção excessiva de muco, além de lesões com aspecto hemorrágico, tanto no tegumento como nas brânquias, podendo resultar em morte por asfixia (Pavanelli *et al.*, 2008). Proliferam-se rapidamente em ambientes com excesso de matéria orgânica (Pavanelli *et al.*, 2008).

Mixosporídeos

Mixosporídeos são parasitas encontrados frequentemente em peixes marinhos e de água doce, podendo raramente ser encontrados parasitando répteis, anfíbios e briozoários (Pavanelli *et al.*, 2008). Podem ser parasitas histozóicos (intercelulares, intracelulares ou de luz de vasos) e celozóicos (na cavidade dos órgãos, flutuando ou ligados a superfície epitelial interna dos mesmos) (Eiras, 2006).

O ciclo biológico dos mixosporídeos ocorre em dois hospedeiros: um vertebrado (peixe) e um invertebrado (oligoqueta) (Eiras, 2006; Pavanelli *et al.*, 2008).

Os principais gêneros de mixosporídeos causadores de doenças em peixes são *Henneguya* e *Myxobolus*. A presença dos cistos destes parasitas pode causar hemorragias, lesões cutâneas, focos inflamatórios nas brânquias e superfície corporal, redução da eficiência respiratória e alterações comportamentais, dependendo do órgão parasitado (Martins *et al.*, 1999; Pavanelli *et al.*, 2008).

Helmintos

Outro grupo de parasitas que pode causar sérios danos às pisciculturas são os helmintos, que incluem os ectoparasitas da classe Monogenea, e os endoparasitas conhecidos como nematóides, cestóides, trematódeos e acantocéfalos. O grau de patogenicidade destes parasitas varia muito de uma espécie para outra e depende de diferentes fatores como intensidade do parasitismo, órgãos afetados, grau de especificidade de hospedeiro, presença de infecções concomitantes, fatores genéticos e condições ambientais, tais como, temperatura, concentração de oxigênio, presença de contaminantes e iluminação (Garcia *et al.*, 1993; Santos *et al.*, 2002).

Monogenóides

Dentre os diversos parasitas que afetam peixes criados em cativeiro, um dos principais problemas é a ocorrência de monogenóides. Os monogenóides constituem um grupo de ectoparasitas de brânquias, narinas e superfície do corpo dos peixes, sendo que, um número muito pequeno pode ser encontrado no estômago, cavidade visceral, ovidutos e canais urinários (Eiras *et al.*, 2006). Os parasitas adultos são pequenos, possuem forma alongada, ovóide ou circular e medem cerca de 1 mm a 3 centímetros de comprimento. Prendem-se ao hospedeiro por meio de um órgão posterior chamado haptor, formado por estruturas esclerotizadas, como ganchos, barras e âncoras, que permitem a fixação (Thatcher, 2006). Há também espécies em que se verifica a presença de ventosas, esquamodisco, formações em pinça ou complexos de ganchos (Eiras *et al.*, 2006), além de outras estruturas acessórias, como as glândulas adesivas (também chamadas de órgãos cefálicos).

A identificação das espécies de monogenóides parasitas de peixes está baseada principalmente em aspectos morfológicos, sendo as estruturas esclerotizadas do haptor importantes para a taxonomia. Recentemente, tem sido sugerido o uso de técnicas moleculares, em especial o RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), para auxiliar na identificação específica destes helmintos (Lupchinski *et al.*, 2006).

Os monogenóides parasitas de peixes de água doce são predominantemente representados por espécies das famílias Gyrodactylidae e Dactylogyridae (Eiras *et al.*, 2006). Os girodactilídeos, em geral, são vivíparos e, na sua maioria, parasitam a superfície do corpo e

brânquias dos peixes. Os dactiloirídeos são ovíparos e podem apresentar um ou dois pares de manchas oclares (olhos), facilmente identificadas por microscopia. Estes parasitas quase sempre são encontrados nas brânquias, podendo se alojar também nas cavidades nasais e superfície do corpo (Luque, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008).

As doenças causadas por estes parasitas estão entre as mais importantes para a piscicultura. Grandes mortalidades foram verificadas, principalmente em criações intensivas, nas quais existem altas concentrações de indivíduos. Isso ocorre uma vez que estes parasitas são hermafroditas e apresentam ciclo de vida direto, facilitando as reinfestações. Ademais, em casos de infestações maciças, comprometem o funcionamento das brânquias, órgãos vitais dos peixes (Pavanelli *et al.*, 2008).

Quando presentes nas brânquias, os monogenóides podem provocar hiperplasia celular e hipersecreção de muco, sendo que, a gravidade das lesões é proporcional a quantidade de parasitas presentes no hospedeiro, podendo resultar na morte deste, principalmente em casos de peixes pequenos (Noga, 1995). Quando fixados no tegumento, há lesões de gravidade pouco acentuada, variável com a espécie, podendo verificar-se necrose das células, destruição de escamas e secreção abundante de muco. Os ferimentos determinados pelo haptor dos parasitas facilitam a penetração de agentes secundários, como fungos e bactérias, provocando prejuízos mais importantes que os determinados pelo próprio parasita (Pavanelli *et al.* 2008).

Trematódeos

Dentre os trematódeos parasitas de peixes, os pertencentes à Classe Digenea são os mais importantes, sob o ponto de vista da patogenia e frequência de ocorrência. Os digenéticos são, na sua grande maioria, endoparasitas e apresentam ciclo de vida complexo (heteroxeno), caracterizados por uma sequência de estágios, envolvendo hospedeiros invertebrados (hospedeiros intermediários) e vertebrados (hospedeiros definitivos). Os hospedeiros intermediários quase sempre são moluscos, enquanto que o hospedeiro definitivo pode ser um peixe ou uma ave piscívora (Takemoto *et al.*, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008). No entanto, devido a complexidade do ciclo de vida e pelo fato da transmissão destes parasitas ocorrer troficamente, seu registro em pisciculturas não é muito comum (Takemoto *et al.*, 2004).

A ação patogênica destes trematódeos pode ser observada, principalmente, quando os peixes agem como hospedeiros intermediários destes parasitas. As metacercárias, como são chamadas as larvas dos digenéticos, são mais agressivas do que os parasitas adultos, uma vez que podem migrar pelos tecidos dos hospedeiros, até alcançarem o sítio de infecção, causando lesões e alterações teciduais, sobretudo, quando se encistam (Takemoto *et al.*, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008)

A infecção pelas metacercárias ainda possui um aspecto econômico importante, pois estas podem parecer como pontos amarelos ou negros, ou ainda, como protuberâncias na superfície do corpo do hospedeiro, causando lesões que podem dificultar a comercialização, principalmente de espécies ornamentais, e aspecto repugnante em peixes comercializados para consumo (Takemoto *et al.*, 2004).

Ademais, algumas metacercárias de digenéticos apresentam potencial zoonótico, podendo infectar humanos através da ingestão de carne de peixe crua ou mal cozida. Alguns relatos na literatura falam sobre infecções causadas por metacercárias de *Clinostomum* sp. em humanos (Chung *et al.*, 1995; Tiewchaloern *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2009).

Digenéticos adultos geralmente causam poucos danos aos hospedeiros, sendo quase sempre relacionados a danos locais causados pela fixação das ventosas no sítio de infecção (Takemoto *et al.*, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008). Apenas em casos de alta intensidade de infecção, é possível observar-se alteração negativa no estado nutricional e obstrução intestinal do hospedeiro (Takemoto *et al.*, 2004). Outras alterações também podem ser observadas, de acordo com o órgão infectado/infestado, como por exemplo, nas brânquias pode ocorrer redução da capacidade respiratória, hemorragia, produção excessiva de muco; na vesícula biliar verifica-se a redução da capacidade de armazenamento da bile (Takemoto *et al.*, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008).

Cestóides

Indivíduos da Classe Cestoda são endoparasitas, e os peixes podem abrigar tanto as formas larvais quanto os adultos. As larvas podem localizar-se nas vísceras e cavidade visceral, já os adultos, ocorrem preferencialmente no lúmen intestinal ou nos cecos pilóricos (uma vez que não possuem trato digestório) (Takemoto *et al.*, 2004; Eiras *et al.*, 2006). A

maioria dos cestóides apresenta ciclo de vida heteroxeno, com um ou dois hospedeiros intermediários, sendo os hospedeiros paratênicos pouco conhecidos (Takemoto *et al.*, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008). Assim como os trematódeos, por terem ciclo de vida complexo, raramente são registrados em peixes de cultivo (Takemoto *et al.*, 2004). No entanto, algumas espécies cultivadas em pisciculturas são extremamente suscetíveis a infecções por estes parasitas, tais como *Pseudoplatystoma corruscans*, conhecido popularmente como “pintado”, que é hospedeiro de vários cestóides da família Proteocephalidae (Takemoto *et al.*, 2004).

A patogenicidade é causada tanto pelas formas larvais (plerocercóide) como pelas formas adultas. As larvas plerocercóides podem ser encontradas em grande número no intestino de peixes, reduzindo a capacidade de absorção de nutrientes; podem também causar hemorragia, seguida ou não de inflamação. Quando se encistam, estas larvas também podem causar alterações teciduais (Takemoto *et al.*, 2004).

Já as formas adultas geralmente são menos patogênicas, pois retiram os nutrientes diretamente do lúmen intestinal. Quando ocorrem em alta intensidade de infecção podem causar obstrução intestinal e danos a parede intestinal causada pelos órgãos de fixação contidos no escólice (Takemoto *et al.*, 2004; Eiras *et al.*, 2006).

Acantocéfalos

Acantocéfalos adultos não apresentam trato digestório, e por isso parasitam exclusivamente o intestino delgado de animais, incluindo os peixes. Apresentam uma estrutura na região anterior do corpo chamada de probóscide, utilizada para fixar-se na parede do intestino, deixando o corpo na luz intestinal. As larvas podem ser encontradas na cavidade visceral, mesentério, estômago e cecos pilóricos. O ciclo de vida é complexo, sendo que crustáceos, isópodes e anfípodes podem ser hospedeiros intermediários, enquanto que peixes podem ser hospedeiros paratênicos ou definitivos.

No Brasil, há poucos relatos sobre mortalidade de peixes cultivados devido à presença destes parasitas, uma vez que as lesões ficam, geralmente, restritas ao local de fixação. A patogenia está diretamente relacionada à estrutura da probóscide, que varia entre as espécies de acantocéfalos em relação ao tamanho, presença e quantidade de acúleos e ganchos e presença ou não de bulbo (Thatcher, 2006; Pavanelli *et al.*, 2008).

No entanto, algumas espécies podem causar desnutrição, além de lesões severas como: perfuração na parede intestinal, obstrução retal, necrose e morte por infecções secundárias (Takemoto *et al.*, 2004; Thatcher, 2006; Pavanelli *et al.*, 2008).

Nematóides

Os nematóides podem ocorrer em peixes, tanto na forma adulta como larval. O adulto, normalmente, é encontrado no trato gastrointestinal e as larvas encistadas nos músculos, fígado, superfície das vísceras, cavidade visceral e intestino (Thatcher, 2006; Pavanelli *et al.*, 2008). Apresentam ciclo de vida complexo, e na maioria envolve hospedeiros intermediários, paratênicos ou definitivos (Moravec, 1998). Há exceção de algumas espécies monoxênicas, como é o caso de alguns nematóides da família Cucullanidae (Takemoto *et al.*, 2004) e de *Rondonia rondoni*, nematóide comumente relatado em pacus *P. mesopotamicus*, tanto de pisciculturas como de populações naturais. Peixes podem ser hospedeiros intermediários, paratênicos ou definitivos, enquanto que, crustáceos, oligoquetas e larvas de insetos agem como hospedeiros intermediários destes parasitas (Takemoto *et al.*, 2004).

Em peixes de ambiente natural, são considerados pouco patogênicos (Luque, 2004), contudo, para os sistemas de cultivo intensivo podem de grande importância (Moravec, 2000). Os peixes infectados por nematóides podem apresentar atrofia, necrose, fibrose e inflamação do fígado, dilatação dos vasos sanguíneos e hemorragia do tubo digestivo, obstrução da luz intestinal (Eiras, 2004; Thatcher, 2006). Ademais, larvas encistadas no mesentério, musculatura e outros órgãos, mesmo provocando poucos danos aos peixes, geram um aspecto repugnante para o consumidor, podendo levar a perdas sob o ponto de vista econômico (Takemoto *et al.*, 2004). Alguns nematóides parasitas de peixes possuem potencial zoonótico, como é o caso dos pertencentes à família Anisakidae (Tavares & Alejos, 2006). Algumas espécies de peixes podem ser hospedeiros intermediários ou paratênicos, albergando as larvas de terceiro estágio (L3). Tais larvas localizam-se nas serosas viscerais e podem migrar para a musculatura, onde se encistam e, se ingeridas, constituem um risco potencial sob o ponto de vista de saúde pública.

Crustáceos

Nos peixes podem ocorrer os seguintes grupos de crustáceos parasitas: copépodes, branquiúros e isópodes (Thatcher, 2006). São transmitidos diretamente ao hospedeiro, alojando-se nas brânquias, cavidades nasais, superfície do corpo e músculos (Takemoto *et al.*, 2004).

A patogenia deste grupo é variável, e vão desde a pressão entre os tecidos devido a sua presença, até danos mecânicos causados pelas suas estruturas de fixação, tais como: oclusão da circulação branquial, com necrose e destruição de áreas importantes desse órgão; destruição da epiderme, derme e músculo, além de viabilizar a penetração de fungos e bactérias (infecções secundárias); compressão de órgãos internos, como gônadas, podendo resultar em castração e conseqüente redução do plantel; hemorragia; perda de peso, associada a uma redução do nível de lipídios, redução na taxa de crescimento e alteração no comportamento (Takemoto *et al.*, 2004; Thatcher, 2006; Pavanelli *et al.* 2008).

Crustáceos parasitas de peixes são vetores importantes de doenças de etiologia viral (Ex.: virose primaveril das carpas, que pode ser transmitida pelo branquiúro *Argulus foliaceus*), bem como de hemoparasitas de peixes (Takemoto *et al.*, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008). Por ser um grupo muito diverso, causam grandes prejuízos em pisciculturas em nível mundial (Takemoto *et al.*, 2004), mas também são encontrados parasitando peixes de populações naturais (Thatcher, 2006).

Infecções bacterianas

As bactérias dos gêneros *Aeromonas*, *Pseudomonas* e *Flavobacterium* estão entre as de maior importância econômica na produção comercial de peixes de água doce (Pavanelli *et al.*, 2008). A grande maioria das bactérias é de fácil disseminação e também possuem caráter oportunista (invasores secundários). Assim, condições ambientais inadequadas ao cultivo causam estresse nos peixes, facilitando também a ocorrência de infecções bacterianas (Kubitza, 2000; Pavanelli *et al.*, 2008).

Aeromonas spp. e *Pseudomonas* spp. são bacilos móveis Gram-negativos, e geralmente estão associadas a um quadro de septicemia hemorrágica (infecção generalizada) em peixes (Kubitza, 2000; Pavanelli *et al.*, 2008). No caso de *Aeromonas* spp., a infecção

pode ocorrer em hospedeiros como anfíbios, aves, répteis, mamíferos e peixes, de modo que estes animais podem servir como “reservatórios” desta bactéria (Esteves & Sant’Anna, 2006). A ocorrência destas bactérias pode estar associada a excessiva carga de matéria orgânica no viveiro e com água de má qualidade (Kubitza, 2000; Esteves & Sant’Anna, 2006; Pavanelli *et al.*, 2008). Tais organismos entram no hospedeiro por meio do trato digestivo, através do alimento ou água contaminada, e também através de lesões na pele e brânquias (Esteves & Sant’Anna, 2006). Baixos níveis de oxigênio durante o transporte e nos viveiros/tanques de produção causam estresse aos peixes, desencadeando severas infecções, causando mortalidade e grande prejuízo ao produtor (Kubitza, 2000).

Flavobacterium columnare é agente etiológico da columnariose, doença conhecida popularmente como “doença da boca de algodão”, “doença da coluna” ou “doença da cauda comida” (Kubitza, 2000; Pavanelli *et al.*, 2008). É uma bactéria Gram-negativa, na forma de bacilos alongados (bastonetes) e móveis (Pilarski *et al.*, 2008). É também uma espécie oportunista, que vive em pleno equilíbrio com os peixes, até a ocorrência de algum distúrbio ambiental ou pressão de manejo que cause estresse aos animais, resultando na infecção (Kubitza, 2000). Esta doença, geralmente possui maior incidência durante o verão, quando há intensificação do manuseio dos peixes e aumento da temperatura da água, uma vez que, temperaturas entre 28-30 °C são ótimas para o desenvolvimento desta bactéria, que é de comum ocorrência em regiões tropicais e subtropicais. Bactérias desta espécie se instalam em ferimentos ou lesões corporais causadas durante o manejo dos animais, ou ainda, por outros parasitas, tais como *Trichodina* spp. (Kubitza, 2000).

Infecções fúngicas

Os principais fungos causadores de micoses em peixes podem se manifestar através de infecções tegumentares ou branquiais, como ocorre com a saprolegniose ou branquiomicose, ou ainda, adquirem caráter sistêmico, como a exofialose (Kubitza, 2000; Pavanelli *et al.*, 2008).

Os fungos geralmente agem como agentes secundários em peixes com lesões externas causadas por bactérias e parasitas (Kubitza, 2000). A má nutrição e injúrias físicas causadas por manejo inadequado durante a despesca, pesagem e transporte dos peixes favorecem a

ocorrência de infecções por fungos (Kubitza, 2000; Pavanelli *et al.*, 2008). Além disso, os esporos presentes na água são, na maioria dos casos, responsáveis pelas epizootias observadas em pisciculturas. Assim, a má qualidade de água e temperatura também influenciam nas infecções (Pavanelli, *et al.*, 2008).

Ocorrência de patógenos em peixes do gênero Piaractus

Parasitas, de uma forma geral, podem ser encontrados tanto em peixes de populações naturais como em animais criados em cativeiro. Na literatura, há vários relatos sobre a ocorrência de parasitas em *P. mesopotamicus* e *P. brachypomus*, no entanto, não há dados sobre o parasitismo no híbrido patinga, provavelmente por ser uma linhagem relativamente recente. Entre as classes de helmintos parasitas de pacu (*P. mesopotamicus*) e pirapitinga (*P. brachypomus*) procedentes de populações naturais ou criadas em sistemas intensivos, já foram relatados monogenóides, nematóides, trematódeos, cestóides e acantocéfalos, além de infestações por protozoários, mixosporídeos e crustáceos (Eiras *et al.*, 2010).

Estudos comprovam que o pacu é hospedeiro natural de monogenóides da espécie *Anacanthorus penilabiatus* (Boeger *et al.*, 1995; Pamplona-Basilio *et al.*, 2001; Pavanelli *et al.*, 2008), e *Mymarothecium viatorum* (Cohen & Khon, 2005). Em pacus cultivados, tem sido relatada a ocorrência de *Anacanthorus penilabiatus*, *A. spathulatus* (Conroy & Conroy, 1998; Del Pozo, 2000; Lizama *et al.*, 2007; Urbinati *et al.*, 2010), *Urocleidoides* sp. (Urbinati *et al.*, 2010) e *M. viatorum* (Cohen & Khon, 2009). Em pirapitingas, também já foi registrada a ocorrência de *A. penilabiatus* (Pamplona-Basilio *et al.*, 2001) e *M. viatorum* (Boeger *et al.*, 2002; Cohen & Khon, 2009).

É comum encontrar pacus infectados por nematóides, por isso, no Brasil têm sido feitos levantamentos com o intuito de investigar quais as espécies de nematóides ocorrem nesta espécie de peixe. O nematóide de comum ocorrência em pacu é *R. rondoni* e, apesar de os vermes adultos serem quase sempre encontrados em grande intensidade parasitária, sobretudo no intestino desses peixes, estes são geralmente assintomáticos (Pavanelli *et al.*, 2008). Nematóides desta espécie foram descritos parasitando peixes em populações naturais e em cativeiro (Kohn *et al.*, 1985; Parra *et al.*, 1997; Campos, 2006). Além do pacu, outros peixes também foram descritos como hospedeiros para *R. rondoni*, incluindo a pirapitinga

(Costa, 1962; Conroy, 1989 *apud* Parra *et al.*, 1997). Outras espécies de nematóides também já foram descritas parasitando pacu, como é o caso de *Spectatus spectatus* (Hamman, 1982; Kohn *et al.*, 1985; Ceccarelli & Oliveira, 1986). Recentemente, Luque *et al.* (2011) fizeram uma revisão das espécies de nematóides parasitas de peixes do Brasil, na qual *P. mesopotamicus* é citado como hospedeiro de *Goezia leporine*, *Porrocaecum* sp., *Spectatus* sp. e *Chabaudinema americanum*. Segundo a mesma revisão, *P. brachypomus* é hospedeira de *Klossinemella iheringi*, *R. rondoni*, *Rondonia* sp. e *S. spectatus*.

Infecções causadas pelos digenéticos *Dadaytrema oxycephala* e *Pseudoparabaris parabaris* também foram relatadas em pacus (Campos *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2003) e pirapitingas (Eiras *et al.*, 2010; Thatcher, 2006) de populações naturais. O cestóide *Proteocephalus vazzolerae* e o acantocéfalo *Echinorhynchus jacundum* também foram relatados parasitando o intestino de pacus (Campos *et al.*, 2009; Eiras *et al.*, 2010).

Em pacus cultivados e de populações naturais, tem sido relatada a presença dos protozoários *I. multifilis*, *Ichthyobodo necator*, *Trichodina* sp., *Chilodonella* sp., *Epistylis* sp., *Piscinoodinium pillulare*, *Trypanosoma nuttii*, *Cryptobia* sp., amebas; crustáceos: copepoditos e adultos de *Laernea cyprinacea*, *Argulus* sp., *Dolops carvalhoi* e *Ergasilus* sp.; e mixosporídeos *Henneguya piaractus*, *Henneguya* sp., *Henneguya pellucida*, *Henneguya leporinicola*, *Myxobolus colossomatis* e *Myxobolus cuneus* (Martins *et al.*, 2000, 2002; Adriano *et al.*, 2006; Eiras *et al.*, 2010; Urbinati *et al.* 2010), sendo que, em alguns casos de peixes cultivados, bactérias e fungos foram registradas causando infecções secundárias (Martins *et al.*, 2000, 2002).

Na literatura há poucos relatos sobre ocorrência natural de infecções microbianas em *P. brachypomus*, possivelmente porque, embora seja uma espécie nativa e de importância comercial, sua produção ainda é relativamente pequena no país, principalmente quando comparada a *P. mesopotamicus*. Rodríguez *et al.* (2005), realizaram estudos com híbridos de tilápia e *P. brachypomus* infectadas experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*, com intuito de avaliar a sua atividade hemolítica e proteolítica *in vitro* e sua toxicidade em peixes *in vivo*. Em pacus criados na região Norte do Paraná, foram isolados: *Lactobacillus* sp., *Acinetobacter* sp., *Aeromonas* sp. e Enterobacteriaceae (perfil API 20E não codificado) (Eiras, *et al.*, 1998 *apud* Urbinati *et al.*, 2010). Pilarski e colaboradores (2008) isolaram e

caracterizaram a bactéria *F. columnare*, agente etiológico da columnariose em peixes de água doce, incluindo *P. mesopotamicus*, responsável por mortalidade em pisciculturas no mundo todo.

Frequentemente, a ocorrência de parasitas está associada à falta de profilaxia, manejo inadequado, má qualidade de água e altas densidades de estocagem (Martins *et al.*, 2000). Assim, o monitoramento da sanidade dos peixes e qualidade da água, bem como medidas profiláticas, são considerados como os principais responsáveis pela prevenção e redução da proliferação de agentes patogênicos em peixes cultivados (Martins *et al.*, 2002).

Caracterização de algumas propriedades produtoras de pacu e patinga na região Noroeste do Estado de São Paulo

A propriedade “A” (Figura 1A), localizada no município de Estrela d’Oeste, (20°16’17.26’’ S 50°23’30.24’’ O), caracteriza-se por ser uma unidade de produção de alevinos (larvas) e juvenis (Figuras 2A e B). Nesta, a alimentação dos peixes é feita com ração comercial com 28% de proteína bruta (PB), uma vez ao dia. Os peixes são estocados em baixa densidade, em viveiros com cerca de 6.000 m² de espelho d’água, e 2 m de profundidade. A grande maioria dos peixes criados são pacu *P. mesopotamicus*, patinga (híbrido) e o tambaqui *C. macropomum*, que são fornecidos às propriedades de engorda, incluindo a piscicultura “B - Engorda”, quando atingiam cerca de 20 a 30 g. Há baixa renovação de água nos viveiros, e a aeração complementar é utilizada apenas em caso de emergência (níveis de oxigênio dissolvido na água abaixo de 3 mg/L). O vazio sanitário e a sanitização com utilização de cal é feita uma vez ao ano. Não realiza-se assepsia dos equipamentos utilizados durante o manejo. Para o transporte, os peixes são mantidos em água contendo sal (3 a 4%).

A propriedade “B” (Figura 1B), localizada no município de Cosmorama (20°27’59.70’’ S 49°46’06.65’’ O), caracteriza-se por ser uma unidade de engorda de peixes, que são vendidos a pisciculturas do tipo “pesque-pague”, como a propriedade “C”. A oferta de ração é feita duas vezes ao dia, com ração comercial dotada de 32% de PB, oferecida até que os peixes atinjam 300 g, e posteriormente, substituída por outra com 28% de PB, até que os peixes atinjam o peso de venda (cerca de 600 a 800 g). O híbrido patinga (Figura 2C) é o principal foco de produção, seguido da tilápia (*Oreochromis niloticus*), os quais são fornecidos

à propriedade “C – Pesque-pague” quando atingem tamanho adequado. O viveiro apresenta cerca de 12.500 m² de espelho d’água, 3 m de profundidade, vazão da água de 5 litros/segundo (baixa renovação da água) e a aeração complementar também é utilizada apenas em caso de emergência. Os peixes são estocados em alta densidade (1,2 kg/m²), e o viveiro apresenta tela de proteção para evitar o acesso de aves e outros predadores. Anualmente o produtor realiza o vazio sanitário e a sanitização dos viveiros por meio de calagem, porém, não realiza assepsia dos equipamentos utilizados durante o manejo. Para o transporte, os peixes são mantidos em jejum por 24 horas; posteriormente, são conservados a temperatura de 25 °C, em água contendo sal (3 a 4%) durante o deslocamento.

A propriedade “C” (Figura 1C), localizada no município de Votuporanga, (20°24’30.31” S 49°58’05.33” O), é uma piscicultura do tipo “pesque-pague”. A alimentação é feita com ração comercial com 28% de PB, uma vez ao dia (100 kg), apenas um dia por semana. Nos demais dias, os peixes se alimentam de itens disponíveis no viveiro, como insetos, moluscos, copépodos, além de iscas oferecidas pelos pescadores. O viveiro tem 6.000 m² de espelho d’água, 2,8 m de profundidade, vazão da água de cerca de 3 litros/segundo (baixa renovação) e uso constante de aeradores durante a noite e no período da manhã. Não há efetivo controle da densidade de estocagem devido ao elevado fluxo de entrada e saída de peixes e da ausência de despesca total para realização de vazio sanitário. Estima-se que haja mais de 10.000 kg de peixe no viveiro em questão. Peixes de diversas espécies dividem o mesmo viveiro, dentre eles o pacu (Figura 2D), o híbrido patinga, pirapitinga (*P. brachypomus*), piau (*Leporinus* sp.), tilápia (*O. niloticus*), matrinxã (*Brycon* sp.), corimba (*Prochilodus* sp.), pirarara (*Phractocephalus* sp.), carpas (*Cyprinus* sp.) entre outros. Esta propriedade não realiza o vazio sanitário e assepsia dos equipamentos utilizados como prática preventiva às enfermidades parasitárias e bacterianas na produção de peixes.

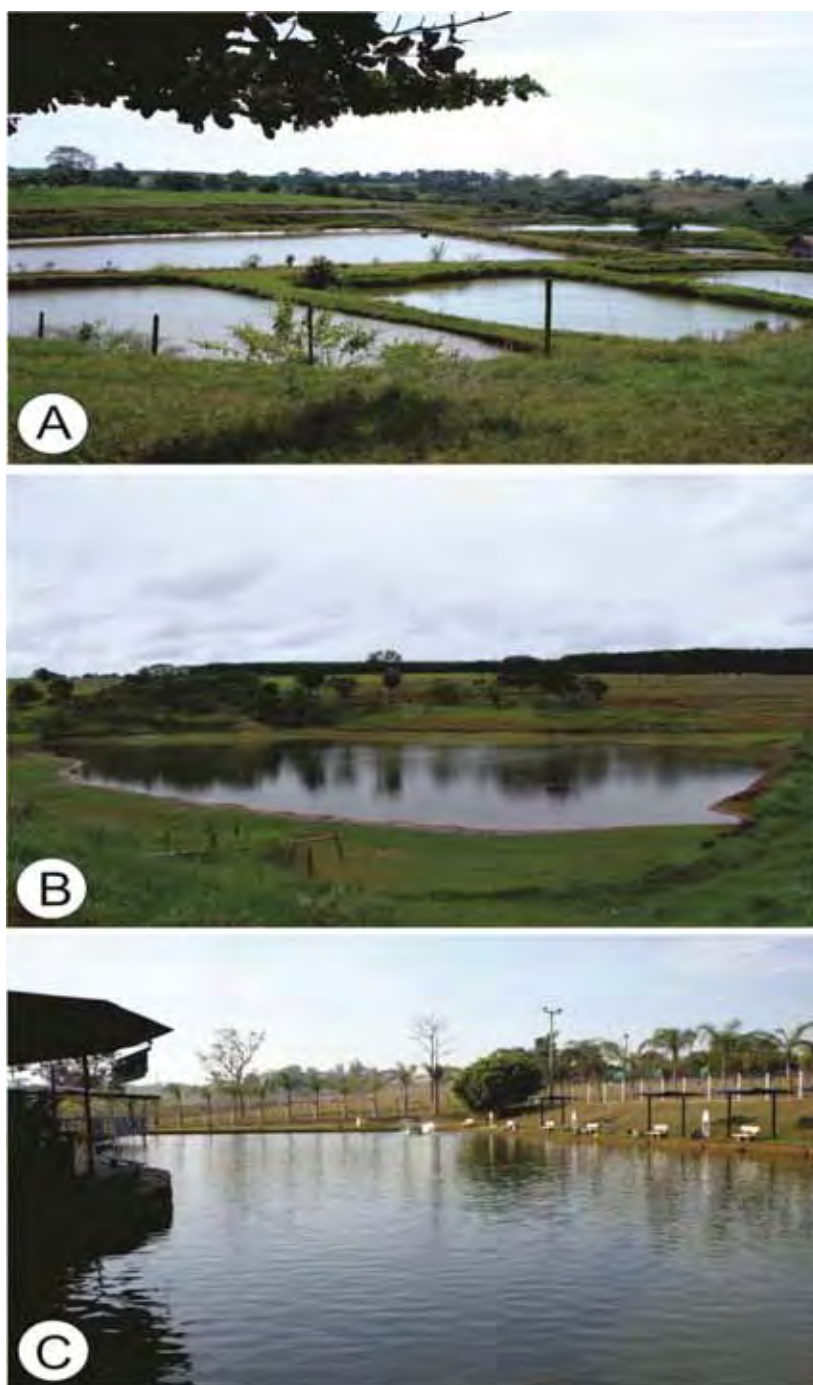


Figura 1. Pisciculturas localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo. A) Propriedade “A – Reprodução e Larvicultura”; B) Propriedade “B – Engorda”; e C) Propriedade “C – Pesque-pague”.

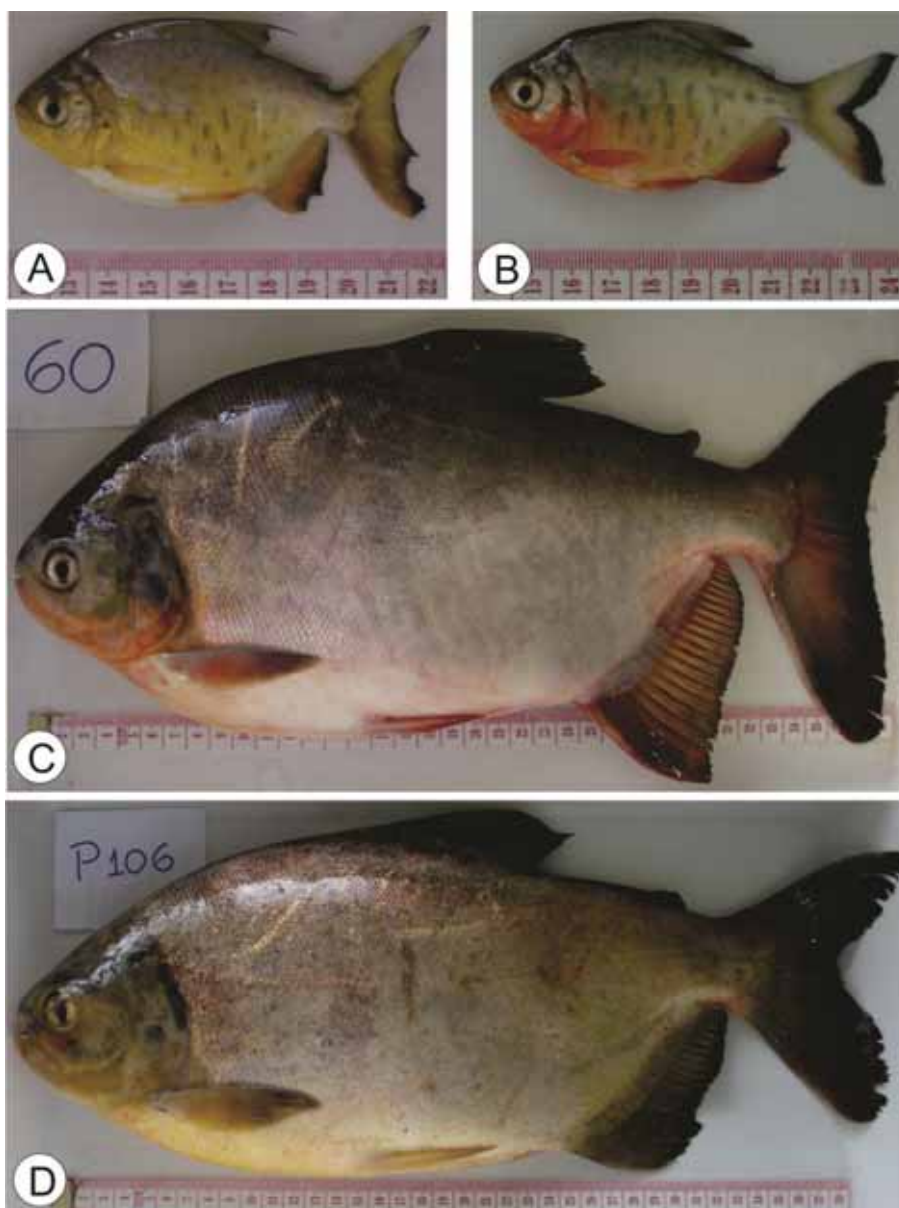


Figura 2. Peixes coletados nas pisciculturas localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo. A e B) Pacu e patinga, respectivamente, coletados na propriedade “A – Reprodução e Larvicultura”; C) Patinga coletada na propriedade “B – Engorda”; D) Pacu coletado na propriedade “C – Pesque-pague”.

Referências bibliográficas

- Adriano, E.A. Arana, S. Cordeiro, N.S. *Myxobolus cuneus* N. Sp. (Myxosporea) Infecting the connective tissue of *Piaractus mesopotamicus* (Pisces: Characidae) in Brazil: Histopathology and Ultrastructure. **Parasite**, v.13, p.137-142. 2006.
- Barros, H.P. Diagnóstico da aquicultura continental na região noroeste do Estado de São Paulo. **In:** Castellani, D. (ed.) I Workshop de Piscicultura do Noroeste Paulista. Votuporanga, 2009.
- Boeger, W.A.; Husack, W.S.; Martins, M. L. Neotropical monogenoidea. 25. *Anacanthorus penilabiatus* (Dactylogyridea: Anacanthirinae) from *Piaractus mesopotamicus*, cultivated in the State of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.90, n.6, p. 699-701, 1995.
- Boeger, W.A; Piasecki, W.; Sobocka, E. Neotropical monogenoidea. 44. *Mymarothecium viatorum* sp. n. (Ancyrocephalinae) from the gills of *Piaractus brachypomus* (Serrasalmidae, Teleostei) captured in a warm-water canal of a Power Plant in Szczecin, Poland. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v.32, 2002.
- Brasil. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis. Ministério do meio ambiente. **Estatística da Pesca 2007: Grandes regiões e unidades da Federação**. Brasília, 2007. 151p.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Coordenação de Controle de Resíduos e Contaminantes**. Brasília: Mapa ACS, 2009. 24p.
- Buckup, P.A; Menezes, N.A; Ghazzi, M.S (ed.). **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. 195p.
- Campos, C.F.M. Fauna parasitária e alterações teciduais em três espécies de peixes dos rios Aquidauana e Miranda, Pantanal Sul Mato-Grossense. 2006. 125f. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista - UNESP. Jaboticabal, São Paulo.
- Campos, C.M.; Takemoto, R.M.; Fonseca, V.E.; Moraes, F.R. Ecology of the parasitic endohelminth community of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Characiformes) from Aquidauana and Miranda Rivers, Pantanal, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.69, n.1, p.87-92, 2009.

- 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**, Netherlands, v.67, p. 289-296, 2003.
- Ceccarelli, P.S.; Oliveira, C.A. Ocorrência de helmintos, parasitos de *Colossoma mitrei* Ber, 1985 em ambiente natural. **In: IV SIMBRAQ**, Associação Brasileira de Aquicultura, Ribeirão Preto, p.203-205, 1986.
- Chabalin, E.; Ferraz De Lima, J.A.; Alves, L.B.O.A. Análise comparativa entre o valor comercial do pacu (*Colosoma mitrei*) capturado e cultivado – Mercado de peixes de Cuiabá. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v.1, n.1, p.49-60, 1988.
- Cheng, T.C. **General Parasitology**. Orlando: Academic Press; 1986. 827p.
- Chung, D.I.I; Moon, C.W; Kong, H.H.; Choi, D.H.; Lim, D.K. The first human case of *Clinostomum complanatum* (Trematoda: Clinostomidae) infection in Korea. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 33, p. 219-223. 1995.
- Cohen, S.C.; Kohn, A. A new species of *Mymarothecium* and new host and geographical records for *M. viatorum* (Monogenea: Dactylogyridae), parasites of freshwater fishes in Brazil. **Folia Parasitologica**, v. 52, p 307–310, 2005.
- Cohen, S.C.; Kohn, A. On Dactylogyridae (Monogenea) of four species of characid fishes from Brazil. **Check List**, v.5, n.2, p.351–356, 2009.
- Conroy, G.; Conroy, D.A. **Enfermedades y parasitos de cachamas, pacus y tilapias**. Maracay: Pharma-Fish, 1998. (Doc. Tecnico, n. 3).
- Costa, S.C.G. Aspectos biológicos do gênero *Rondonia* Travassos 1920 (Nematoda, Atractidae). **Arquivo do Museu Nacional**, v. 52, p. 75-78. 1962.
- Del Pozo, C.F. Levantamento ectoparasitológico em brânquias de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Osteichthyes, Characidae) em pesque-pagues no município de Campo Grande, MS. 2000. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitaria), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS. Campo Grande, Mato Grosso do Sul.
- Eiras, J.C. **Elementos de ictioparasitologia**. Porto: Fundação Engenheiro Antônio de Almeida, 1993. 339p.

- Eiras, J.C., Takemoto, R.M.; Pavanelli, G.C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. Maringá: Eduem, 2ª ed., 2006. 199 p.
- Eiras, J.C., Takemoto, R.M.; Pavanelli, G.C. **Diversidade de parasitas de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: Clichetec, 2010. 333p.
- Esteves, K.E.; Sant'Anna, C.L. (orgs.). *Pesqueiros sob uma visão integrada de meio ambiente, saúde pública e manejo: um estudo na região metropolitana de São Paulo*.
- Froese, R.; Pauly, D. (ed.). **FishBase**. World Wide Web electronic publication. 2011. Disponível em: <www.fishbase.org> Acesso em: 04 de dez. 2011.
- Garcia, M. L. J.; Osorio-Sarabia, D.; Constantino, F. Prevalencia de los parasitos y las alteraciones histológicas que producen a las tilapias de La laguna de Amela, Tecomán, Colima. **Veterinaria México**, n.24, p.199-205. 1993.
- Genovez, L.W.; Pilarski, F.; Sakabe, R.; Marques, M.P.A.; Moraes, F.R. Controle biológico de *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.34, n.1, p. 99 – 105. 2008
- Hamann, M.I., Lombardero, O. J. Las helmintoses de los peces del rio Paraná superior. **Veterinaria Corrientes**, v.2, p.161-172, 1982.
- Heckmann, R. **Protozoan Parasites of Fish**, Part II. Aquaculture Magazine, Asheville, 1996. 56-59p.
- Hubbs, C.L. Hybridization between fish species in nature. **Systematic Zoology Journal**, v.4, p.1-20, 1955.
- Kitamura, P.G.; Lopes, R.B.; Castro Jr., L; Queiroz, J.F. Avaliação ambiental e econômica dos lagos de pesca esportiva na bacia do rio Piracicaba. **Boletim da Indústria Animal**, v.56, n.1, p.95-107, 1999.
- Kohn, A. Fernandes, B.M.M.; Macedo, B. Abramson, B. Helminths parasites of freshwater fishes from Pirassununga, SP, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.80, n.3, p.327-336, 1985.
- Kubitza, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: F. Kubitza, 2000. 289p.
- Kubitza, F., Ono, E.A.; Campos, J.L. Os caminhos da produção de peixes nativos no Brasil: uma análise da produção e obstáculos da piscicultura. **Panorama da Aquicultura**. 2007

- Lizama, M. de los 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. 2. *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Acta Scientiarum Biological Science**, v.29, p.437-445, 2007.
- Lowe-Mcconnell, R.H. **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. São Paulo: Edusp, 1999. 536p.
- Lupchinski, Jr.; Vargas, L.; Ribeiro, R.P.; Moreira, H.L.M.; Valentin, M.; Povh, J.A. A importância da utilização da técnica RAPD para a identificação de dactiloirídeos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v.9, n.1, p.49-57, 2006.
- Luque, J.L. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p. 161-164, 2004.
- Luque, J.L.; Aguiar, J.C.; Vieira, F.M.; Gibson, D.I; Santos, C.P. Checklist of Nematoda associated with the fishes of Brazil. **Zootaxa**, p.1-88, 2011.
- Madsen, H.C.K.; Buchmann, K.; Møllergaard, S. *Trichodina* sp. (Ciliophora: Peritrichida) in eel *Anguilla anguilla* in recirculation systems in Denmark: host-parasite relations. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.42, n.1., p.149–152, 2000.
- Martins, M.L.; Moraes, F.R.; Fujimoto, R.Y.; Onaka, E.M.; Nomura, D.T.; Silva, C.A.H.; Schalch, S.H.C. Parasitic infections in cultivated brazilian freshwater fishes. A survey of diagnosticated cases. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.1, p. 23-28, 2000.
- Martins, M.L.; Onaka, O.M.; Moraes, F.R.;Bozzo, F.R.; Paiva, A.M.F.C.; Gonçalves, A. Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fishes in the state of São Paulo, Brazil. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v.24, n.4, p.981-985, 2002.
- Martins, M.L.; Souza, V.N.; Moraes, J.R.E.; Moraes, F.R. Gill infection of *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Osteichthyes: Anostomidae) by *Henneguya leporinicola* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae). Description, Histopathology and Treatment. **Revista Brasileira de Biologia**, v.59, p.527-534, 1999.

- Moravec, F. Nematodes as parasites of inland fishes in México. **In.**: Salgado-Maldonado, G.; Aldrete, A.N.G; Vidal-Martínez, V.M. (Eds.). *Metazoan parasites in the tropics: a systematic and ecological perspective*. México: UNAM, 2000.p.155-166.
- Moravec, F. **Nematodes of freshwater fishes of the Neotropical region**. Praha: Academia, 1998. 464p.
- Nelson, J. S. **Fishes of the world**. New York: John Wiley & Sons, 4ª ed., 2006. 601p.
- Noga, E. J. **Fish Disease**. 1a. ed. Missouri: Mosby-Year Book, 1995. 367p.
- Ostrensky, A. Boeger, W. **Piscicultura: Fundamentos e técnicas de manejo**. Guaíba: Agropecuária Ltda., 1998. 211p.
- Pamplona-Basilio, M.C; Kohn, A.; Feitosa, V.A. New Host Records and Description of the Egg of *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea, Dactylogyridae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.96, n.5, p.667-668, 2001.
- Park, C.W; Kim, J.S.; Joo,H.S.; Kim, J. A Human Case of *Clinostomum complanatum* infection in Korea. **The Korean Journal of Parasitology**, v.47, n.4, p.401-404. 2009.
- Parra, J.E.G.; Brandão, D.A.; Ceccarelli, P.S. Eficácia do fembendazole no controle de nematóides de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1987). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n.2, p.297-299, 1997.
- Pavanelli, G. C.; Eiras, J.C.; Takemoto, R. M . **Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: Eduem, 3ª ed., 2008. 311 p.
- Pilarski, F. Rossini, A.J.; Ceccarelli, P.S. Isolation and characterization of *Flavobacterium columnare* (Bernardet *et al.* 2002) from four tropical fish species in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n.2, p.409-414, 2008
- Reis, R.E.; Kullander, S.O.; Ferraris-Jr., C.J. (Orgs.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. 343-377p.
- Rodríguez, M.; Botero, E.; Iregui, C.A.; Figueroa, J. Extracción de productos extracelulares de *Aeromonas hydrophila* y sus efectos en tilapia roja (*Oreochromis spp.*) y cachama blanca (*Piaractus brachyomus*). **Acta Biológica Colombiana**, v.10, n.2, 2005.
- Santos, R. S.; Pimenta, F.D.A.; Martins, M.L.; Takahashi, H.K.; Marengoni, N.G. Metacercárias de *Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum* Lutz, 1928 (Digenea,

- Diplostomidae) em peixes do rio Paraná, Brasil. Prevalência, sazonalidade e intensidade de infecção. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v.24, n.2, p.475-480, 2002.
- Santos, S.M.C.; Ceccarelli, P.S.; Rêgo, R.F. Helintos em peixes do Pantanal sul-matogrossense: primeira expedição do Programa Pantanal. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v.16, p.15-26, 2003.
- Schalch, S.H.C. Apreciação da fauna ictioparasitária em pesqueiro tipo pesque-pague do município de Guariba – SP durante o período de abril de 1997 a março de 1999. 2002. 109f. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual Paulista- UNESP, Jaboticabal, São Paulo.
- Schalch, S.H.C; Moraes, J.R.E.; Moraes, F.R. Fauna parasitária de peixes oriundos de “pesque-pague” do município de Guariba, São Paulo, Brasil. **Acta Scientiarum - Biological Science**, Maringá, v.28, n.3, p.291-297. 2006.
- Silva, A.J. Aspectos da alimentação do pacu adulto, *Colossoma mitrei* (Berg, 1985) (Pisces, Characidae), no pantanal de Mato Grosso. 1985. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro/RJ.
- Takemoto, R.M.; Lizama, M. de los A.P.; Guidelli, G.M.; Pavanelli, G.C. Parasitos de peixes de águas continentais. **In.**: Ranzani-Paiva, M.J.T.; Takemoto, R.M.; Lizama, M. de los A.P. (orgs.). Sanidade de organismos aquáticos. São Paulo: Varela, 179-198p. 2004.
- Tavares, L.E.R.; Alejos, J.L.F.L. Sistemática, biologia e importância em saúde coletiva das larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas de peixes ósseos marinhos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **In.**: Silva-Souza, A.T (org.). Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil. Maringá: Abrapoa, 2006. 387p.
- Thatcher, V. E. **Amazon Fish Parasites**. Bulgária: Pensoft Publishers. 2006. 509p.
- Thatcher, V. E.; Brites-Neto, J. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.16, n.3, p.111-128, 1994.
- Tiewchaloern, S.; Udomkijdech, S.; Suvouttho, S.; Chunchamsri, K.; Waikagul, J. *Clinostomum* trematode from human eye. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v.30, p.382-384, 1999.

- Urbinati, E.C.; Gonçalves, F.D.; Takahashi, L.S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **In:** Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (orgs.) Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2^a ed. Santa Maria: UFSM, 2010. 205-244p.
- Val, A.L., Silva, M.N.P & Val, V.M.F.A. Estresse em peixes – ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. **In:** Ranzani-Paiva, M.J.T.; Takemoto, R.M.; Lizama, M. de los A.P. (orgs.) Sanidade de organismos aquáticos. São Paulo: Varela, 2004.75-88p.

Artigo 1

*Infecções parasitárias do pacu *Piaractus mesopotamicus* e do híbrido patinga cultivados no Noroeste Paulista, Brasil*

Artigo a ser submetido à revista Journal of Fish Diseases

Resumo

Este estudo avaliou a ocorrência de infecções parasitárias em pacu *Piaractus mesopotamicus* e do híbrido patinga (*P. mesopotamicus* x *P. brachypomus*) procedentes da região Noroeste do Estado de São Paulo. Para tanto, três pisciculturas foram amostradas bimestralmente, de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011: A - Reprodução e Larvicultura; B – Engorda e C - Pesque-pague. Trinta e cinco peixes de cada propriedade foram coletados (5 peixes/coleta), nos quais foram encontrados: dactilogirídeos (Monogenea); *Trichodina* spp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Chilodonella* sp. (Protozoa); *Myxobolus* spp. e *Henneguya* spp. (Myxozoa); *Rondonia rondoni* e *Contracaecum* sp. (Nematoda) e *Dolops carvalhoi* (Crustacea). Dentre os peixes analisados, 62,9% de “A” e 100% de “B” e “C” estavam infectados/infestados por pelo menos uma espécie de parasita. Pacus (n=44) apresentaram maior suscetibilidade a infestações por *Anacanthorus penilabiatus*, e patingas (n=61), por *Mymarothecium viatorum* (p<0.05). A infestação por *Trichodina* em patingas de “B” e por *A. penilabiatus* no total de patingas analisadas foi maior no período seco e chuvoso, respectivamente (p<0.05). A profilaxia e cuidados durante o manejo (alimentação, transporte e estocagem), associados ao monitoramento da qualidade de água reduzem o estresse o qual os peixes cultivados estão submetidos, sendo medidas imprescindíveis para o controle de patógenos.

Palavras-chaves: sanidade, parasitas, manejo, piscicultura.

Abstract

This study evaluated the occurrence of parasitic infections in “pacu” *Piaractus mesopotamicus* and hybrid “patinga” (*P. mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*) from the Northwest of São Paulo State, Brazil. Fishes from three fish farms were evaluated every two months: A - Reproduction and larviculture (pacu/patinga), B - Growout (patinga) and C - Fee-fishing property (pacu/patinga). Thirty-five fishes from each property were collected from February 2010 to February 2011 for parasitological analysis. The parasites found were: Dactylogyridae (Monogenea), *Trichodina* spp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Chilodonella* sp. (Protozoa), *Myxobolus* spp., *Henneguya* spp. (Myxozoa), *Rondonia rondoni*, *Contracaecum* sp. (Nematoda), and *Dolops carvalhoi* (Crustacea). Among the fishes examined, 62.9% from "A" and 100% from "B" and "C" were infected / infested with at least one parasite species. Pacu (n = 44) showed higher susceptibility to *Anacanthorus penilabiatus* infestations and patingas (n = 61), to *Mymarothecium viatorum* (p<0.05). Seasonality influenced *Trichodina* spp. and *A. penilabiatus* infestations in patingas from property “B” and all patinga analyzed, with higher infestations on dry and rainy season, respectively (p < 0.05). The appropriate fish handling (nutrition, transport and storage) associated with monitoring of the quality of water can reduce the stress which the farmed fish are submitted, which is an essential measure to pathogens control.

Key words: fish health; parasites; fish handling; fish farm.

Introdução

O aumento significativo das atividades relacionadas à aquicultura, observado no Brasil e no mundo, tem aumentado consideravelmente a relevância dos estudos sobre parasitas e outros patógenos de organismos aquáticos, principalmente daqueles hospedeiros com potencial para o cultivo e para a comercialização (Luque, 2004). O monitoramento de parasitas e outros patógenos em peixes cultivados é uma importante medida profilática, tanto para a produção, como para saúde pública, sobretudo devido ao potencial zoonótico de alguns destes organismos (Pavanelli *et al.*, 2008).

Desde a década de 1980, o Brasil tem apresentado grande avanço em relação ao desenvolvimento de pesquisas e o surgimento de novas técnicas de criação em piscicultura, que ampliaram as alternativas referentes às espécies e linhagens de peixes a serem criadas, como é o caso do *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg), conhecido popularmente como pacu (Genovez, Pilarski, Sakabe, Marques & Moraes 2008) e do híbrido patinga, resultado de hibridação interespecífica entre a fêmea (F1) de *P. mesopotamicus* e o macho (M1) de pirapitinga *Piaractus brachypomus* (Cuvier).

As parasitoses são uma das maiores causas de perdas nas pisciculturas industrial e esportiva, sendo mais relevante na região Neotropical, pelas características climáticas pertinentes a região, as quais propiciam sua rápida e constante propagação (Thatcher & Brites-Neto 1994). Dados sobre a epidemiologia na cadeia produtiva de peixes são escassos, dificultando a implementação de técnicas de cultivo e manejo que possam reduzir a necessidade de intervenção sanitária para controle de doenças (Ostrensky & Boeger 1998).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de infecções parasitárias em pacu *P. mesopotamicus* e do híbrido patinga procedentes de pisciculturas, com peixes em diferentes fases da cadeia produtiva, da região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Material e métodos

Caracterização das propriedades

Para avaliar o parasitismo nas diferentes fases de criação de pacus *P. mesopotamicus* e patingas (híbrido), foram selecionadas três propriedades, a considerar: propriedade “A”,

localizada no município de Estrela d'Oeste, (20°16'17.26'' S 50°23'30.24'' O), caracteriza-se por ser uma unidade de produção de larvas e juvenis de peixes. Nesta propriedade, a produção é, em sua grande maioria, representada pelo pacu, patinga e tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier), que são fornecidos às propriedades de engorda, incluindo a piscicultura "B", quando atingiam cerca de 20 a 30 g. Os peixes são estocados em baixa densidade, em viveiros com cerca de 6.000 m² de espelho d'água, e 2 metros de profundidade, nos quais há baixa renovação da água. A propriedade "B", localizada no município de Cosmorama (20°27'59.70'' S 49°46'06.65'' O), caracteriza-se por ser uma unidade de engorda de peixes, que são vendidos às pisciculturas do tipo "pesque-pague", como a propriedade "C". O híbrido patinga é o principal foco de produção, seguido da tilápia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). O viveiro apresenta cerca de 12.500 m² de espelho d'água, 3 metros de profundidade, vazão da água de 5 litros/segundo (baixa renovação da água). Os peixes são estocados em alta densidade (1,2 kg/m²), e fornecidos à propriedade "C" quando atingem cerca de 600 a 800 g. A propriedade "C", localizada no município de Votuporanga, (20°24'30.31'' S 49°58'05.33'' O), é uma piscicultura do tipo "pesque-pague", na qual peixes de diversas espécies e seus híbridos dividem o mesmo viveiro, dentre eles o pacu, o híbrido patinga, pirapitinga, piau (*Leporinus* sp. Agassiz), tilápia, entre outros. O viveiro tem 6.000 m² de espelho d'água, 2,8 m de profundidade e vazão da água de cerca de 3 litros/segundo (baixa renovação). Não há efetivo controle da densidade de estocagem devido ao elevado fluxo de entrada e saída de peixes e da ausência de despesca total para realização de vazão sanitário. Estima-se que haja mais de 10.000 kg de peixe no viveiro em questão.

Procedimentos no campo e laboratório

As coletas foram realizadas no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011, totalizando sete coletas bimestrais, com o intuito de somar dados referentes à distribuição sazonal dos parasitas. Os meses de coleta foram classificados em "seco" ou "chuvoso" com base em informações sobre a pluviosidade mensal acumulada (mm) disponível no site do Boletim Agrometeorológico CIIAGRO (www.ciiagro.sp.gov.br/CIIAGROonline), sendo o período seco de abril a setembro e de outubro a março, chuvoso.

Foram coletados, cinco peixes de cada propriedade (A, B e C) por coleta, totalizando 105 peixes (35 peixes/propriedade). Os peixes foram capturados com o auxílio de vara de pesca artesanal e/ou puçá, individualizados em sacos plásticos e mantidos em gelo. Em seguida, foram transportados para o laboratório, onde foram pesados, medidos e a superfície corporal analisada, a fim de verificar a presença de cistos ou ectoparasitas. Os parasitas avaliados foram: monogenóides, protozoários ciliados, mixozoários e helmintos parasitas do sistema gastrointestinal.

Para análise qualitativa dos protozoários ciliados e mixozoários, foram feitos raspados de tegumento com auxílio de lâmina histológica e o material coletado foi imediatamente analisado em microscópio óptico (Pavanelli, Eiras & Takemoto 2008). *Imprints* ou esfregaços de tecidos do rim, fígado e baço também foram feitos com intuito de avaliar a presença de esporos de mixosporídeos. Não foi realizada análise quantitativa destes parasitas, uma vez que os peixes não foram analisados em campo, e devido à dificuldade de quantificar-se os esporos de mixosporídeos. O fato de os peixes terem sido encaminhados ao laboratório dentro de sacos plásticos poderia interferir nos resultados, por tratar-se de ectoparasitas.

Após o raspado de pele, as brânquias foram coletadas e fixadas em álcool para posterior quantificação e identificação dos monogenóides. Para estudo das estruturas esclerotizadas (haptor e complexo copulatório) amostras foram clarificadas com meio de Hoyer ou Grey & Wess (Eiras, Takemoto & Pavanelli 2006).

Após a análise externa, com o auxílio do microscópio estereoscópio, foi feita uma incisão longitudinal na superfície ventral dos indivíduos, para identificação macroscópica das gônadas e retirada dos órgãos da cavidade (intestino e estômago) para coleta de endoparasitas. Os nematóides coletados foram fixados em solução de AFA (Álcool 70% - Formol - Ácido Acético) a quente, e preservados em álcool 70% de acordo com Eiras *et al.* (2006). Para identificação, foram submetidos à diafanização pelo Lactofenol de Aman (Andrade 2000).

A identificação dos parasitas foi baseada principalmente em chaves de identificação e guias de referência. Amostras dos parasitas encontrados foram fotomicrografadas a partir das preparações a fresco no momento do diagnóstico no laboratório ou após serem coletados de materiais fixados, empregando-se sistema computadorizado de análise de imagens - Qwin Lite 3.1 (Leica). Material-tipo e espécimes representativos das espécies de helmintos foram

depositados na Coleção Helmintológica do Instituto de Biociências (CHIBB), UNESP, *campus* de Botucatu.

Análise da qualidade da água dos viveiros

Para a avaliação da qualidade da água, nos dias de coleta foram obtidas amostras de água em cada viveiro. Foram avaliados *in situ* alguns fatores físico-químicos da água, tais como o oxigênio dissolvido e a temperatura, ambos medidos com aparelho multissensor de marca “YSY – Mod.50”; e transparência da água, por meio do Disco de Secchi. O pH, concentração de nitrito e amônia foram obtidos através da utilização de Kit colorimétrico AlfaKit®.

Análise estatística

Os cálculos referentes à prevalência (P), abundância média (AM) e intensidade média de infecção (IMI) dos parasitas foram feitas de acordo com Bush, Lafferty, Lotz & Shostak (1997). Os dados de IMI e AM estão apresentados como média ± erro padrão da média seguidos da variação entre parênteses.

A proporção de peixes parasitados foi comparada entre os períodos seco e chuvoso, considerando-se pacus e patingas coletados em cada propriedade, bem como entre a soma de pacus e patingas, independente da propriedade amostrada, empregando-se o teste de proporção (Z-test). A intensidade de infecção e abundância foram comparadas com os testes Mann-Whitney ou teste *t* de Student, de acordo com a distribuição dos dados.

Com base nos dados de comprimento padrão e peso total, foi calculado o fator de condição conforme Vazzoler (1996), o qual foi correlacionado com a abundância parasitária dos peixes das três propriedades, empregando-se o coeficiente de correlação de Spearman (*rs*) ou Pearson (*r*), de acordo a distribuição dos dados.

Os testes de proporção e correlação foram calculados pelo software Sigma Stat 3.1. Em toda análise estatística o índice de significância adotado foi de 5%.

Resultados

Na propriedade “A – Reprodução e Larvicultura” foram coletados 16 pacus e 19 patingas imaturos. Na propriedade “B – Engorda”, os 35 espécimes coletados eram patingas, sendo 14 fêmeas, 19 machos e dois indefinidos. Na propriedade “C – Pesque-pague”, foram coletados 28 pacus e 7 patingas. Do total de 35 exemplares coletados, 15 eram fêmeas (8 pacus e 7 patingas), 19 eram machos (pacus) e um indefinido.

Os dados referentes ao peso, comprimento total e padrão dos peixes ($n = 35$ peixes/propriedade) estão apresentados como média \pm erro padrão da média seguidos da variação entre parênteses (Tabela 1).

Na análise parasitológica dos peixes das propriedades A, B e C foram encontrados os seguintes parasitas: monogenóides da família Dactylogyridae Yamaguti (Figuras 1 (A-C), 2 (A-C) e 3 (A-C)); larvas de terceiro estágio de *Contracaecum* sp. Railliet & Henry (Figura 4 A-C) e nematóides adultos da espécie *Rondonia rondoni* Travassos (Figura 4 D-F) e; protozoários ciliados *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet (Figura 5 A), *Chilodonella* sp. Strand (Figura 5 B) e *Trichodina* Ehrenberg (Figura 5 C-D); mixosporídeos dos gêneros *Henneguya* Thélohan (Figura 6 A-B) e *Myxobolus* Bütschli (Figura 6 C-D); e o crustáceo branquiúro da espécie *Dolops carvalhoi* Lemos de Castro (Figura 7 A-B).

Do total de peixes analisados na propriedade “A – Reprodução e Larvicultura” (16 pacus e 19 patingas), 62,9% estavam infectados/infestados por pelo menos uma espécie de parasita. De modo geral, os monogenóides da família Dactylogyridae foram os parasitas mais prevalentes da amostra ($P = 51,4\%$). As espécies foram identificadas como *Anacanthorus penilabiatus* Boeger, Husak & Martins (Prevalência [P] = 64,3%) (Figura 1 A-C) e *Mymarothecium viatorum* Boeger, Piasecki & Sobecka ($P = 35,7\%$) (Figura 2 A-C). Seguem-se ainda, os protozoários ciliados do gênero *Trichodina* ($P = 37,1\%$) e os mixosporídeos dos gêneros *Myxobolus* ($P = 20,0\%$) e *Henneguya* ($P = 14,3\%$). Apenas 2,9% dos peixes avaliados estavam infectados pelo protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*.

Dados referentes ao parasitismo de pacus e patingas das três propriedades amostradas, avaliados separadamente, encontram-se na Tabela 2.

Tabela 1. Peso (g), comprimento padrão (cm) e total (cm) de peixes coletados nas propriedades “A - Reprodução e Larvicultura”, “B - Engorda” e “C - Pesque-pague” localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo.

Propriedades	Peso	Comprimento Padrão	Comprimento Total
A – Reprodução e Larvicultura			
pacu (n=16)	59,5±20,1 (11,0-257,0)	10,7±1,0 (6,8-19,2)	12,7±1,2 (7,9-22,3)
patinga (n=19)	36,7±9,4 (5,9-160,5)	9,5±0,7 (6,3-17,2)	11,9±0,9 (7,5-20,5)
B – Engorda			
patinga (n=35)	1.252,6 ± 85,7 (418,4 – 2.950,0)	32,3 ± 0,7 (22,0 - 39,5)	37,2 ± 0,7 (25,3 – 45,0)
C – Pesque-pague			
pacu (n=28)	1.188,6±77,3 (529,4-2.355,0)	32,9±0,6 (25,8-39,5)	38,3±0,7 (29,7-48)
patinga (n=7)	1.595,5±131,1 (941,4-2.104,9)	37,2±1,8 (31,0-45,5)	41,4±1,8 (36,5-51,0)

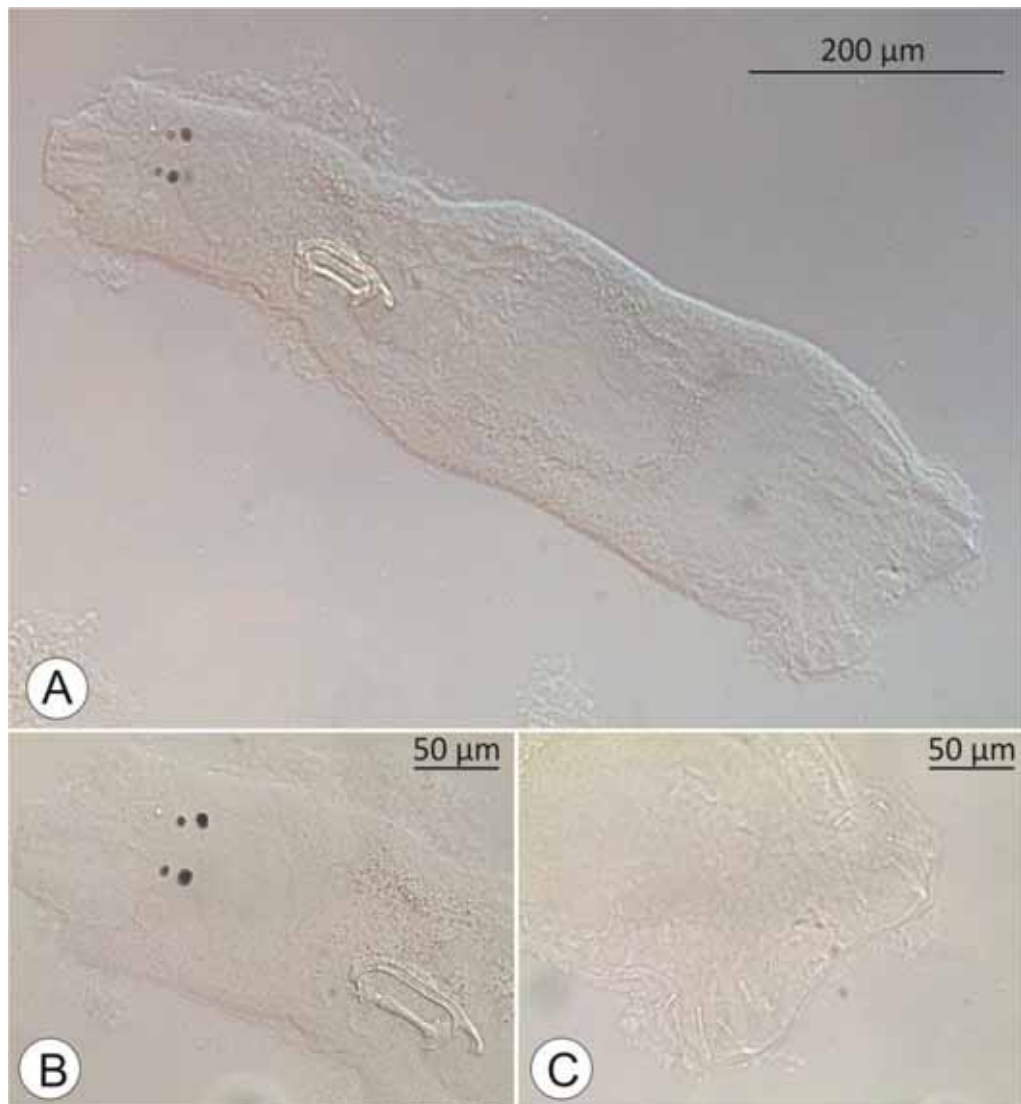


Figura 1. *Anacanthorus penilabiatus* (Dactylogyridae) coletado de brânquias de pacu *Piaractus mesopotamicus* procedente da piscicultura “C – Pesque-pague”, localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. A) visão total; B) Região anterior: detalhe do complexo copulatório; C) Haptor.

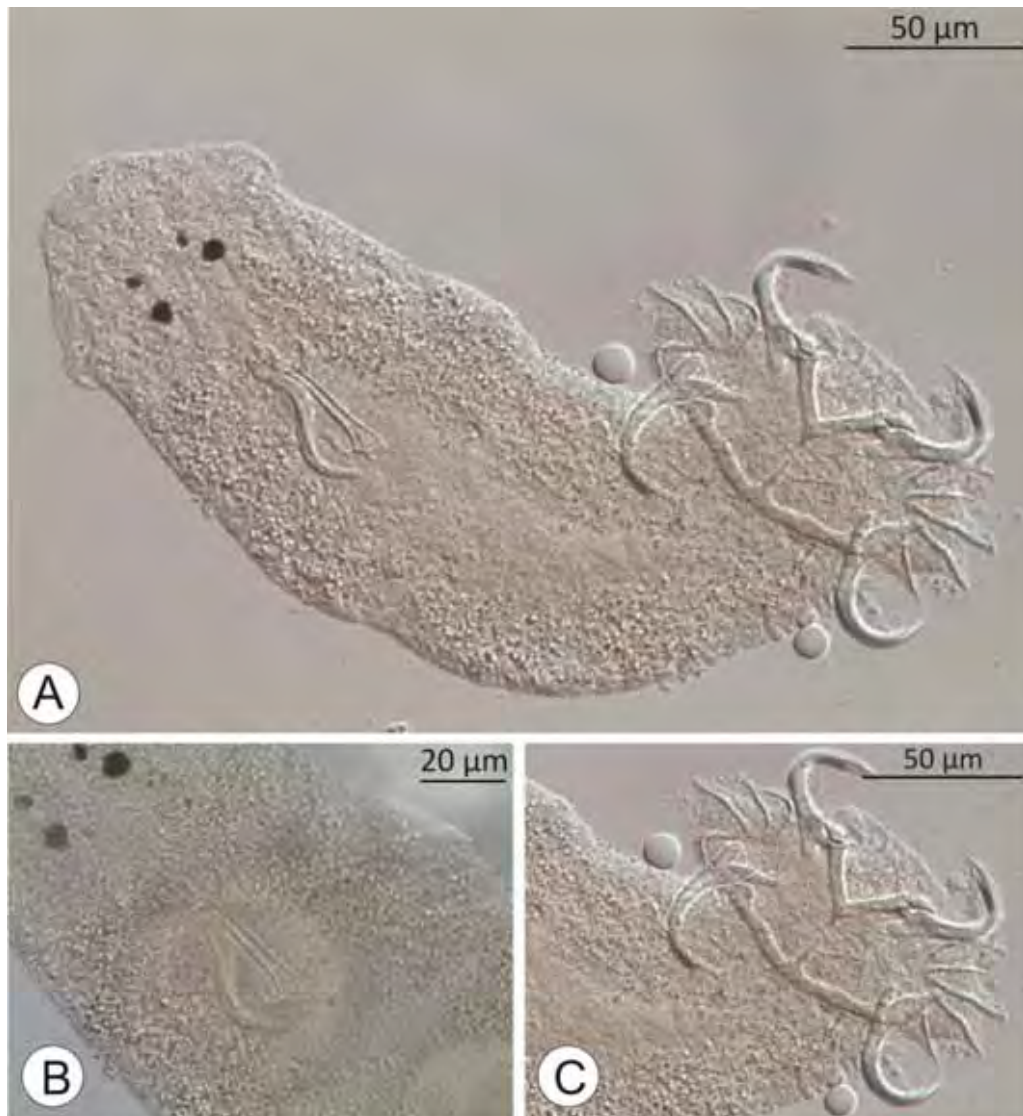


Figura 2. *Mymarothecium viatorum* (Dactylogyridae) coletado de brânquias do híbrido patinga procedente da piscicultura “B – Engorda”, localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. A) visão total; B) Região anterior, mostrando detalhe do complexo copulatório; C) Haptor.

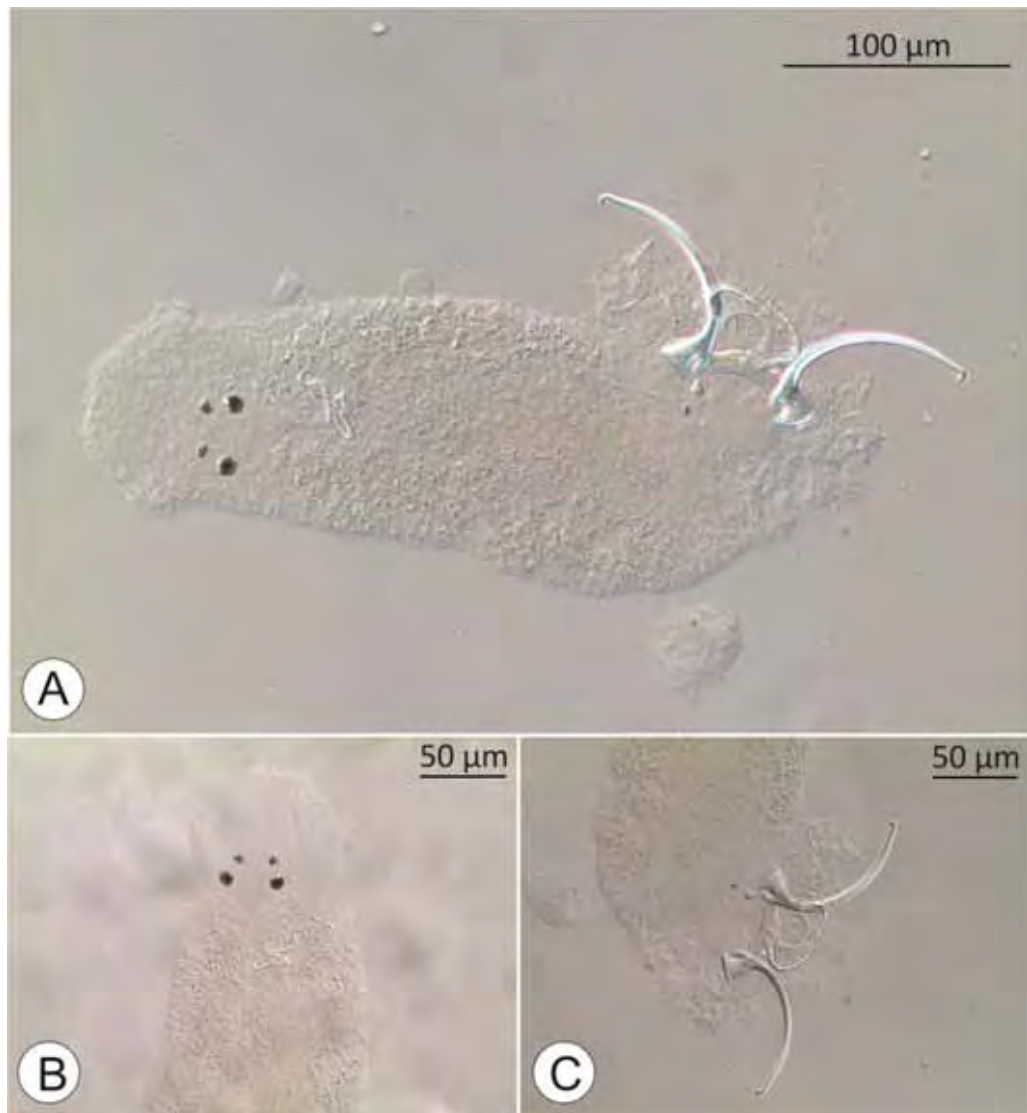


Figura 3. *Notozothecium janauachensis* (Dactylogyridae) coletado de brânquias do híbrido patinga procedente da piscicultura “B – Engorda”, localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. A) visão total; B) Região anterior; C) Haptor.

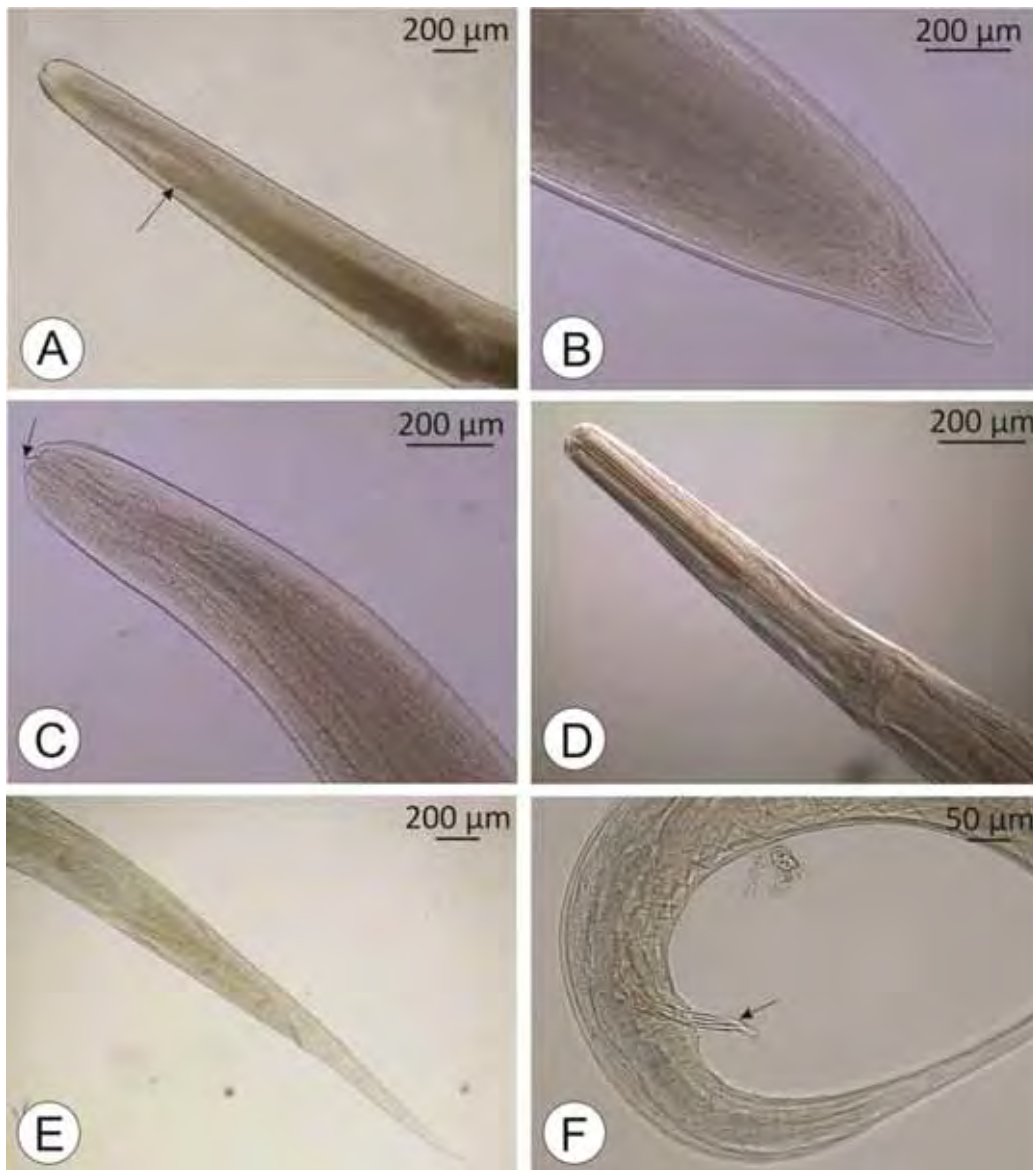


Figura 4. Nematóides parasitas de pacus *Piaractus mesopotamicus* procedentes da piscicultura “C – Pesque-pague”, localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil: A-C: Larvas de terceiro estágio de *Contracaecum* sp. – A) - região anterior mostrando ceco intestinal (seta), B) – região posterior, C) – região anterior, em detalhe, dente larval (seta); D-F) *Rondonia rondoni*: D) região anterior; E) região posterior da fêmea; F) região posterior do macho, mostrando detalhe dos espículos (seta).

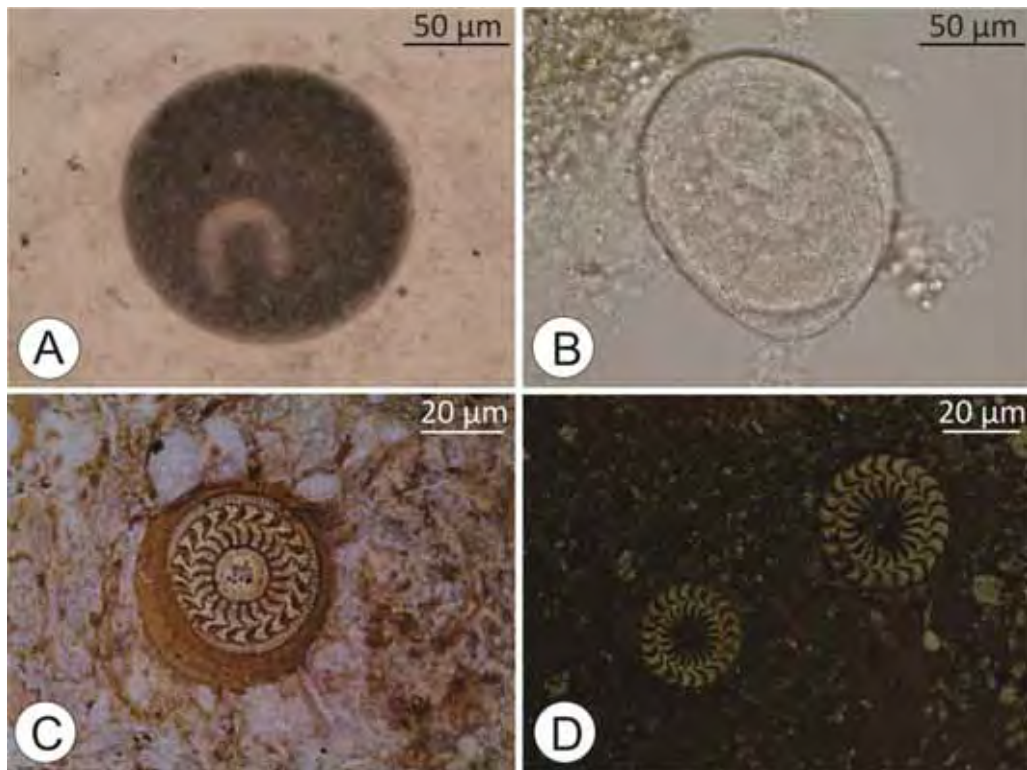


Figura 5. Protozoários ciliados parasitas de pacus *Piaractus mesopotamicus* e do híbrido patinga procedentes das pisciculturas “A – Reprodução e Larvicultura”, “B – Engorda” e “C – Pesque-pague” localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. A) *Ichthyophthirius multifiliis*; B) *Chilodonella* sp.; C-D) Tricodinídeos do gênero *Trichodina*.

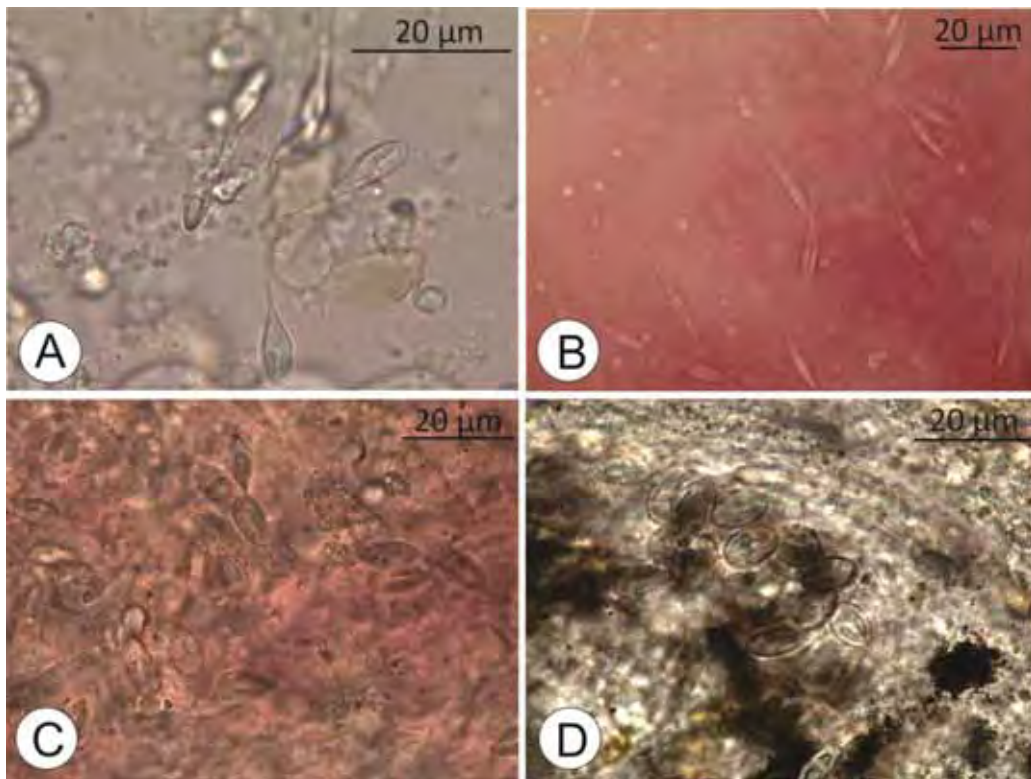


Figura 6. Mixosporídeos parasitas de pacus *Piaractus mesopotamicus* e do híbrido patinga procedentes das pisciculturas “A – Reprodução e Larvicultura”, “B – Engorda” e “C – Pesque-pague” localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. A-B) Esporos de *Henneguya* spp. observados no muco (A) e rim (B); C-D) Esporos de *Myxobolus* spp. observados no rim (C) e baço (D).

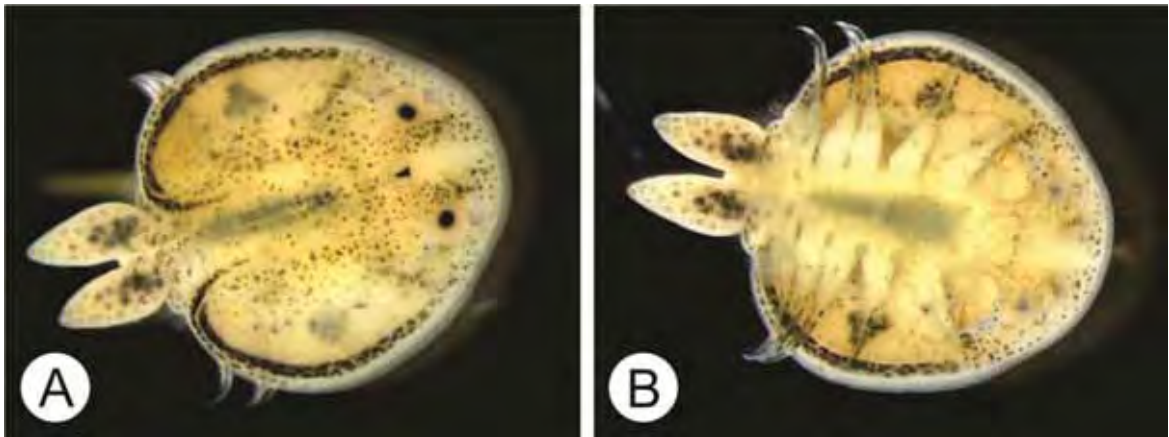


Figura 7. *Dolops carvalhoi* (Branchiura) coletado sobre as escamas de pacu *Piaractus mesopotamicus* procedente da piscicultura “C - Pesque-pague” localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. A) Visão dorsal; B) Visão ventral.

Foi observada maior intensidade média de infecção por *Anacanthorus penilabiatus* em pacus do que em patingas analisadas na propriedade “A” ($U = 80,0$; $p = 0,03$). O mesmo foi observado em relação à abundância média de *Trichodina* spp., sendo esta maior nos pacus do que nas patingas da mesma propriedade ($U = 348,5$; $p = 0,04$). Não foi observada diferença estatística em relação aos níveis de parasitismo das demais espécies de parasitas, quando comparados os índices observados em pacus e patingas (Tabela 2).

Na engorda (propriedade B), 100,0% das patingas ($n = 35$) estavam parasitadas por pelo menos uma espécie de parasita. Os monogenóides da família Dactylogyridae foram os parasitas mais prevalentes da amostra ($P = 100,0\%$), sendo que *M. viatorum* foi encontrado em maior prevalência ($P = 100,0\%$), seguido de *A. penilabiatus* ($P = 88,6\%$). Ainda, as patingas apresentaram maior intensidade média de infecção e abundância média de *M. viatorum* [IMI e AM = $261,0 \pm 57,2$ (1,0-1.331,0)]. As infestações por *Trichodina* spp. também apresentaram considerável prevalência e intensidade média de infecção [$P = 25,7\%$; IMI = $22,9 \pm 1,0$ (1,0-94,0)] (Tabela 3).

No pesque-pague (propriedade C), 100% dos peixes coletados (28 pacus e 7 patingas) também estavam parasitados por pelo menos uma espécie de parasita. Os parasitas mais prevalentes em toda amostra ($n = 35$) foram os monogenóides dactilogirídeos ($P = 97,1\%$), sendo que *A. penilabiatus* apresentou prevalência de 41,9% e *M. viatorum*, 58,0%. O monogenóide *Notozothecium janauachensis* Belmont-Jégu, Domingues & Martins foi encontrado parasitando as brânquias de apenas uma das patingas analisadas ($P = 14,3\%$), bem como o protozoário ciliado *Chilodonella* sp. ($P = 14,3\%$), encontrado no muco da pele. O crustáceo *Dolops carvalhoi* foi também observado na pele de um único pacu ($P = 3,6\%$) (Tabela 4).

Quando considerados todos os pacus e patingas analisados na propriedade “C”, 82,8% estavam infectados com *Rondonia rondoni*, caracterizando uma alta prevalência. Entre os pacus analisados ($n = 28$) nesta propriedade, os monogenóides *A. penilabiatus* e *M. viatorum* foram os parasitas de maior prevalência, ambos com 96,4%. A prevalência de *R. rondoni* e das larvas de terceiro estágio (L3) de anisacuídeos do gênero *Contracaecum* foi também elevada, sendo de 89,3% e 28,7%, respectivamente. Não foram encontradas larvas de *Contracaecum* sp. encistadas na musculatura dos peixes. Em relação à intensidade média de infecção e

abundância média dos parasitas de pacus, *R. rondoni* apresentou os maiores índices [IMI=11.874,0±2.451,1 (675,0 – 49.476,0); AM = 10.602,1±2.295,2 (0-49.476,0)], seguido do monogenóide *M. viatorum* [IMI = 30,5±6,5 (0,6-107,0); AM = 29,4±6,4 (0-107,0)]. Considerando as patingas analisadas nesta mesma propriedade, foi observada alta prevalência de *M. viatorum* e *A. penilabiatus* (P = 100,0% para ambas as espécies), seguido de *R. rondoni* (P = 57,1%), que também apresentou os maiores índices de intensidade média de infecção e abundância média [IMI= 2.905,0±1.097,4 (1.344,0-6.138,0); AM = 1660,3±829,9 (0-6.138,0)] (Tabela 4).

A infecção por ciliados do gênero *Trichodina* em patingas coletadas na propriedade “B” apresentou variação sazonal, sendo que a intensidade média de infecção foi significativamente maior no período seco (T = 7,520; p ≤ 0,001) (Tabela 6). Nas demais propriedades não foram observadas diferenças significativas entre os índices de parasitismo nos períodos seco e chuvoso (p > 0,05) (Tabelas 5 e 7).

Não foi observada correlação entre a abundância parasitária e o fator de condição dos peixes em nenhuma das propriedades avaliadas (p > 0,05).

Tabela 2. Prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI), abundância média (AM) e local de infecção de parasitas de pacus (n=16) e patingas (n=19) procedentes da propriedade “A- Reprodução e Larvicultura” localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Parasita	Pacu			Patinga			Sítio de infecção
	P	IMI	AM	P	IMI	AM	
Propriedade A – Reprodução e Larvicultura (16 pacus; 19 patingas)							
Monogenea							
							Brânquias
<i>Anacanthorus penilabiatus</i>	43,7	41,4±15,6* (0,8-111,6)	18,1±8,4 (0-111,6)	47,4	2,1±0,6* (0,1-5,9)	1,0±0,4 (0-5,9)	
<i>Mymarothecium viatorum</i>	31,2	11,2±3,6 (0,1-22,3)	3,5±1,7 (0-22,3)	52,6	11,6±3,6 (0,8-36,0)	6,1±2,3 (0-36,0)	
Protozoa							
							Brânquias/Pele (muco)
<i>Trichodina</i> spp.	56,2	237±168,1 (1,0-1498,0)	133,3±96,9* (0-1498,0)	21,0	70,2±68,2 (1,0-275,0)	14,8±14,4* (0-275,0)	
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	6,2	6,0	0,4±0,4 (0-6,0)	-	-	-	
Myxosporea							
<i>Henneguya</i> spp.	25,0	-	-	5,2	-	-	Rim/Baço/Pele (muco)
<i>Myxobolus</i> spp.	18,7	-	-	21,0	-	-	Rim/Baço

* Diferença estatística significativa (p<0,05)

Tabela 3. Prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI), abundância média (AM) e local de infecção de parasitas de patingas (n=35) procedentes da propriedade “B – Engorda” localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Parasita	P	IMI	AM	Sítio de infecção
Monogenea				
<i>Anacanthorus penilabiatus</i>	88,6	9,5±2,0 (0,2-44,0)	8,4±1,9 (0-44,0)	Brânquias
<i>Mymarothecium viatorum</i>	100,0	261±57,2 (1-1.331,0)	261,0±57,2 (1-1.331,0)	
Protozoa				Brânquias/Pele (muco)
<i>Trichodina</i> spp.	25,7	22,9±11,0 (1,0-94,0)	5,9±3,2 (0-94,0)	
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	14,3	4,2±2,7 (1,0-15,0)	0,6±0,4 (0-15,0)	
Myxosporea				
<i>Henneguya</i> spp.	17,1	-	-	Rim/Pele (muco)
<i>Myxobolus</i> spp.	5,7	-	-	Rim

Tabela 4. Prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI), abundância média (AM) e local de infecção de parasitas de pacus (n=28) e patingas (n=7) procedentes da propriedade “C- Pesque-pague”, localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Parasita	Pacu			Patinga			Sítio de infecção
	P	IMI	AM	P	IMI	AM	
Monogenea							Brânquias
<i>Anacanthorus penilabiatu</i> s	96,4	17,5±3,7 (0,4-7,6)	16,9±3,6 (0-61,7)	100,0	5,8±1,8 (1,8-16,0)	5,8±1,8 (1,8-16,0)	
<i>Mymarothecium viatorum</i>	96,4	30,5±6,5 (0,6-107,0)	29,4±6,4 (0-107)	100,0	6,5±2,0 (2,1-17,9)	6,5±2,0 (2,1-17,9)	
<i>Notozothecium janauachensis</i>	-	-	-	14,3	2,0	0,3±0,3 (0-2,0)	
Protozoa							Brânquias/Pele (muco)
<i>Trichodina</i> spp.	14,3	1,5±0,3 (1,0-2,0)	0,2±0,1 (0-2)	14,3	1,0	0,1±0,1 (0-1,0)	
<i>Ichthyophthirius multifili</i> is	3,6	19,0	0,7±0,7 (0-19)	-	-	-	
<i>Chilodonella</i> sp.	-	-	-	14,3	2,0	0,3±0,3 (0-2,0)	
Myxosporea							Brânquias/Pele (muco)/Rim
<i>Henneguya</i> spp.	14,3	-	-	42,8	-	-	
<i>Myxobolus</i> spp.	10,7	-	-	14,3	-	-	Rim/Baço
Nematoda							Intestino
<i>Rondonia rondoni</i>	89,3	11.874,4±2.451,1 (675,0-49.476,0)	10.602,1±2.295,2 (0-49.476,0)	57,1	2.905,0±1.097,4 (1.344,0-6.138,0)	1660,3±829,8 (0-6.138,0)	
<i>Contracaecum</i> sp. (L3)	28,7	24,9±16,4 (1,0-136,0)	7,1±4,9 (0-136,0)	14,3	17,0	2,4±2,4 (0-17,0)	Mesentério/ Cavidade
Crustacea							Pele
<i>Dolops carvalhoi</i>	3,6	1,0	0,03±0,03 (0-1,0)	-	-	-	

Tabela 5. Variação sazonal da prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI) e abundância média (AM) de parasitas de pacus (n= 16) e patingas (n= 19) procedentes da propriedade “A- Reprodução e Larvicultura” localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Parasitas	Período seco			Período chuvoso		
	P (%)	IMI	AM	P (%)	IMI	AM
Propriedade A – Reprodução e Larvicultura						
Monogenea						
<i>Anacanthorus penilabiatus</i>						
Pacu	25,0	4,4±3,6 (1-8)	1,1±0,9 (0-8,0)	62,5	56,2±17,8 (2,0-111,6)	35,1±14,8 (0-111,6)
Patinga	42,9	0,5±0,2 (0,1-1,0)	0,2±0,1 (0-1)	50,0	2,9±0,7 (1,0-5,9)	1,5±0,5 (0-5,9)
<i>Mymarothecium viatorum</i>						
Pacu	12,5	0,2	0,02±0,02 (0-0,2)	50,0	13,9±3 (8,0-22,4)	6,9±2,9 (0-22,4)
Patinga	42,9	1,8±0,5 (0,8-2,6)	0,8±0,4 (0-2,6)	58,3	15,9±4,2 (1,0-36,0)	9,2±3,3 (0-36)
Protozoa (Ciliophora)						
<i>Trichodina</i> spp.						
Pacu	62,5	14,6±7,4 (3,0-43,0)	9,1±5,2 (0-43,0)	50,0	515±350,9 (1,0-1.498,0)	257,5±189,4 (0-1.498,0)
Patinga	42,9	92,3±91,3 (1,0-275,0)	39,6±39,2 (0-275,0)	8,3	4,0	0,3±0,3 (0-4)
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>						
Pacu	-	-	-	12,5	6,0	0,7±0,7 (0-6,0)
Patinga	-	-	-	-	-	-
Myxosporea						
<i>Henneguya</i> spp.						
Pacu	-	-	-	50,0	-	-
Patinga	-	-	-	8,3	-	-
<i>Myxobolus</i> spp.						
Pacu	-	-	-	37,5	-	-
Patinga	-	-	-	33,3	-	-

* Diferença estatística significativa (p<0,05)

Tabela 6. Variação sazonal da prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI) e abundância média (AM) de parasitas de patingas (n= 35) procedentes da propriedade “B-Engorda” localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Parasitas	Período seco			Período chuvoso		
	P (%)	IMI	AM	P (%)	IMI	AM
Monogenea						
<i>Anacanthorus penilabiatus</i>	93,3	5,7±1,9 (0,2-24,9)	5,3±1,8 (0-24,9)	85,0	12,5±3,3 (0,2-44)	10,7±2,9 (0-44,0)
<i>Mymarothecium viatorum</i>	100,0	168,6±55,9 (6,7-756)	168,6±55,9 (6,7-756)	100,0	329,9±88,9 (0,9-1331,0)	329,9±88,9 (0,9-1331,0)
Protozoa (Ciliophora)						
<i>Trichodina</i> spp.	13,3	78,0±16,0* (62,0-94,0)	10,4±7,2 (0-94,0)	35,0	7,1±3,3* (1,0-25,0)	2,5±1,3 (0-25,0)
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	26,6	5,0±3,3 (1,0-15,0)	1,3±0,9 (0-15,0)	5,0	1,0	0,05±0,05 (0-1,0)
Myxosporea						
<i>Henneguya</i> spp.	13,3	-	-	20,0	-	-
<i>Myxobolus</i> spp.	-	-	-	10,0	-	-

* Diferença estatística significativa (p<0,05)

Tabela 7. Variação sazonal da prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI) e abundância média (AM) de parasitas de pacus (n= 28) procedentes da propriedade “C-Pesque-pague” localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Parasitas	Período seco			Período chuvoso		
	P (%)	IMI	AM	P (%)	IMI	AM
Monogenea						
<i>Anacanthorus penilabiatus</i>	100,0	15,8±5 (0,7-52,2)	15,8±5 (0,7-52,2)	93,7	18,9±5,5 (0,3-61,7)	17,7±5,3 (0-61,7)
<i>Mymarothecium viatorum</i>	100,0	27,5±8,7 (1,3-90,7)	27,5±8,7 (1,3-90,7)	93,7	32,8±9,6 (0,6-107,3)	30,8±9,2 (0-107,3)
Protozoa (Ciliophora)						
<i>Trichodina</i> spp.	-	-	-	25,0	1,5±0,3 (1-2)	0,4±0,2 (0-2)
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	-	-	-	6,2	-	-
Myxosporea						
<i>Henneguya</i> spp.	33,3	-	-	-	-	-
<i>Myxobolus</i> spp.	8,3	-	-	12,5	-	-
Nematoda						
<i>Rondonia rondoni</i>	91,6	15.807,1± 4.706,3 (912,0-49.476,0)	14.489,8± 4.493,7 (0-49.476)	87,5	8.784,4± 2.179,6 (675,0- 30.176,0)	7.686,4± 2.040,9 (0- 30.176,0)
<i>Contracaecum</i> sp. (L3)	50,0	30,8±21,7 (1,0-136,0)	15,4±11,3 (0-136,0)	12,5	7±6 (1-13)	0,9±0,8 (0-13)
Crustacea						
<i>Dolops carvalhoi</i>	8,3	1,0	0,1±0,1 (0-1,0)	-	-	-

* Diferença estatística significativa (p<0,05)

Quando considerados todos os pacus (n = 44) e patingas (n = 61) analisadas, independentemente da propriedade na qual foram amostrados (Tabela 8), não foi observada diferença em relação à prevalência dos parasitas que ocorrem em comum nas três propriedades (*A. penilabiatus*, *M. viatorum*, *Trichodina* spp., *I. multifiliis*, *Henneguya* spp. e *Myxobolus* spp.). Pacus apresentaram maior intensidade média de infecção por *A. penilabiatus* quando comparado com as patingas (U = 1.658; p = 0,012), indicando maior suscetibilidade a infestações causadas por este parasita (Tabela 8). O contrário foi observado quanto à intensidade média de infecção (U = 1.055; p = 0,005) e abundância média (U = 1.859; p = 0,002) de *M. viatorum*, que foi significativamente maior nas patingas (Tabela 8).

Também não foi observada influência do parasitismo sobre o fator de condição, tanto dos pacus como das patingas ($p > 0,05$). Já em relação à sazonalidade, as patingas apresentaram maior intensidade média de infecção por *A. penilabiatum* no período chuvoso ($U = 364$; $p = 0,04$).

Tabela 8. Prevalência (P), intensidade média de infecção (IMI) e abundância média (AM) de parasitas que ocorrem em comum em pacus ($n=44$) e patingas ($n=61$) procedentes das propriedades “A- Reprodução e Larvicultura”, “B – Engorda” e “C – Pesque-pague”, localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Parasitas	Pacu			Patinga		
	P (%)	IMI	AM	P (%)	IMI	AM
Monogenea						
<i>Anacanthorus penilabiatum</i>	77,3	22,4±4,5* (0,4-111,6)	17,3±3,8 (0-111,6)	77	7,5±1,5* (0,1-44,0)	5,8±1,2 (0-44,0)
<i>Mymarothecium viatorum</i>	72,7	27,5±5,6* (0,2-107,3)	19,9±4,5* (0-107,3)	85,2	178,7±41,7* (0,8-1331,0)	152,3±36,4* (0-1331,0)
Protozoa (Ciliophora)						
<i>Trichodina</i> spp.	29,5	164,5±118,5 (1,0-1498,0)	48,6±35,9 (0-1498,0)	22,9	34,8±19,9 (1,0-275,0)	8±4,8 (0-275,0)
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	4,5	12,5±6,5 (6,0-19,0)	0,6±0,4 (0-19,0)	8,2	4,2±2,7 (1,0-15,0)	0,3±0,2 (0-15,0)
Myxosporea						
<i>Henneguya</i> spp.	18,0	-	-	16,4	-	-
<i>Myxobolus</i> spp.	13,6	-	-	11,5	-	-

* Diferença estatística significativa ($p < 0,05$)

Em todas as propriedades, de forma geral, a água apresentou qualidade aceitável para a produção de peixes tropicais durante todo o período de amostragem, segundo Boyde (1990), Kubiza (1999), Ostrensky & Boeger (1998) e Urbinati, Gonçalves & Takahashi (2010), salvo algumas variações observadas na temperatura da água, concentração de amônia ionizada (NH_4^+) e nitrito (Tabela 9).

Tabela 9. Análise da qualidade da água referente às coletas realizadas no período de fevereiro a dezembro de 2010 nas propriedades “A- Reprodução e Larvicultura”; “B – Engorda” e “C – Pesque-pague”, localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. (Valores expressos em média \pm erro padrão).

Parâmetros	A	B	C	Valores de Referência
Temperatura (°C)	25,7 \pm 1,5 (19,8-29,5)	25,8 \pm 1,6 (19,6-31,2)	26,4 \pm 1,5 (20,4-30,1)	20-30 ¹
Transparência (cm)	27,0 \pm 3,9 (18,0-43,0)	32,8 \pm 4,4 (13,0-45,0)	36,7 \pm 2,4 (26,0-44,0)	25-45 ¹
O ₂ D* (mgL ⁻¹)	5,8 \pm 0,5 (4,0-7,2)	3,9 \pm 0,5 (2,1-5,5)	4,7 \pm 0,8 (1,9-7,6)	3-10 ^{2,3}
Amônia total NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	0,3 \pm 0,15 (0-1,2)	0,4 \pm 0,2 (0-1,8)	0,6 \pm 0,3 (0-1,8)	<0,6 ³
Nitrito (mgL ⁻¹)	0,06 \pm 0,02 (0-0,2)	0,2 \pm 0,1 (0-0,7)	0,13 \pm 0,09 (0-0,7)	<0,3 ³
pH	7,5 \pm 0,1 (7-8)	7,3 \pm 0,2 (7-8)	7,3 \pm 0,09 (7-7,5)	6-8 ³
Amônia tóxica NH ₃ (mgL ⁻¹)	0,0076 \pm 0,004 (0-0,03)	0,01 \pm 0,007 (0-0,05)	0,01 \pm 0,007 (0-0,04)	<0,2 ³

¹ Ostrensky & Boeger (1998); ²Urbinati *et al.* (2010): valores de referência específicos para a produção de pacu; ³ Kubitza (1999): valores de referência para espécies em geral;

Discussão

Nas três propriedades, de forma geral, os monogenóides da família Dactylogyridae, apresentaram alta prevalência, sobretudo nas propriedades “B - Engorda” (P = 100,0%) e “C – Pesque-pague” (P = 97,1%). Isto deve estar associado ao fato de que tais parasitas possuem ciclo monoxeno e se reproduzem com grande rapidez, sobretudo em ambientes em que há alta concentração de hospedeiros, facilitando seu ciclo de desenvolvimento (Takemoto, Lizama, Guidelli & Pavanelli 2004; Pavanelli *et al.* 2008). Deste modo, o confinamento de peixes em tanques e viveiros de piscicultura, favorece a proliferação destes parasitas e facilita a sua propagação principalmente devido à proximidade entre os hospedeiros, causando grandes prejuízos econômicos em sistemas intensivos onde há altas densidades de estocagem. De acordo com Martins, Moraes, Fujimoto, Onaka, Nomura, Silva

& Schalch (2000), mortalidade, acúmulo de matéria orgânica e a alta densidade de estocagem estão entre os principais fatores causadores de prejuízos econômicos em pisciculturas. No mesmo estudo, os autores observaram que os monogenóides foram os principais responsáveis por mortalidade ou mudanças comportamentais dos peixes analisados.

Os danos causados por monogenóides estão entre os mais importantes para as pisciculturas, e são relacionados com a espécie do parasita, com o local e intensidade da infestação e com o tipo de alimentação (Pavanelli *et al.* 2008). Ectoparasitas tais como os monogenóides, de uma forma geral, são encontrados mais facilmente em ambientes lênticos, com pouca correnteza, pois nestes, as formas larvais livre-natantes encontram com mais facilidade o seu hospedeiro (Dogiel 1961). Desta forma, viveiros escavados como os amostrados no estudo, são ambientes propícios ao desenvolvimento de monogenóides.

Os monogenóides apresentam especificidade pelo hospedeiro, podendo servir como indicador taxonômico (Thatcher 2006). O gênero *Anacanthorus* é representado por 63 espécies de monogenóides que, em sua grande maioria foi descrita em peixes de populações naturais da Bacia Amazônica, com exceção de *A. penilabiatus*, descrito em brânquias de *P. mesopotamicus* cultivados no Estado de São Paulo, Brasil (Kohn & Cohen 1998). Segundo Boeger, Husack & Martins (1995), em ambientes artificiais, tais como pisciculturas, *A. penilabiatus* é encontrado em elevada abundância, representando um risco potencial para a produtividade. Esta espécie também foi relatada parasitando brânquias de *P. brachypomus* (pirapitinga) e *C. macropomum* (tambaqui) cultivados no Estado do Ceará (Pamplona-Basilio, Kohn & Feitosa 2001).

Mymarothecium viatorum foi descrito por Boeger, Piasecki & Sobecka (2002) parasitando brânquias de *P. brachypomus* procedentes da Polônia. De acordo com os autores, este foi o primeiro relato de ocorrência de infestação por uma espécie do gênero *Mymarothecium* em peixes da subfamília Serrasalminae, que não sejam piranhas (Boeger *et al.* 2002). Posteriormente, Cohen & Kohn (2005) relataram a ocorrência de *M. viatorum* em brânquias de *P. brachypomus* e *P. mesopotamicus* coletados em aquários do centro de pesquisa em aquicultura “Rodolpho von Ihering, DNOCS”, no Estado do Ceará, Brasil.

No presente trabalho, embora os pacus e patingas das três propriedades analisadas estivessem infestados por *A. penilabiatus* e *M. viatorum*, de modo geral, os pacus apresentaram maior suscetibilidade às infestações causadas por *A. penilabiatus*, enquanto que o híbrido patinga apresentou a mesma suscetibilidade em relação ao monogenóide *M. viatorum*. A patinga é resultante do cruzamento entre peixes de espécies diferentes, porém, pertencentes ao mesmo gênero (*Piaractus*), portanto, filogeneticamente próximas. *Anacanthorus penilabiatus* é um parasita natural de pacus, assim como *M. viatorum* é da pirapitinga, como descrito anteriormente. Desta forma, é natural que este híbrido apresente suscetibilidade às infestações por ambas as espécies de monogenóides. Ademais, é possível que a patinga, tenha herdado geneticamente a maior propensão às infestações por *M. viatorum*, bem como ocorre com o pacu em relação à *A. penilabiatus*.

Por apresentarem especificidade pelo hospedeiro, o confinamento de peixes da mesma espécie também favorece a disseminação de monogenóides, reforçando as observações na propriedade “B”.

Notozothecium janauachensis é um parasita natural de brânquias de *C. macropomum*, sendo descrito em exemplares coletados no Estado do Amazonas, Brasil (Belmont-Jégu, Domingues & Martins 2004). Este é o primeiro registro de ocorrência de *N. janauachensis* parasitando o híbrido patinga. Não foram comparados estatisticamente os níveis de parasitismo de pacus e patingas da propriedade “C” devido ao número reduzido de patingas coletadas nesta propriedade. A falta de controle de estocagem de propriedades tipo “pesque-pague” dificultou a amostragem de patingas, que quase sempre se encontravam em número reduzido no viveiro. A ocorrência deste monogenóide em uma das patingas analisadas na propriedade “C- Pesque-pague” deve-se ao fato de que peixes de diferentes espécies, incluindo *C. macropomum*, encontram-se confinados no mesmo viveiro, aumentando as chances de ocorrência de infecções/infestações erráticas, justificando a baixa prevalência deste parasita na amostra. Ainda, peixes dos gêneros *Piaractus* Eigenmann e *Colossoma* Eigenmann são filogeneticamente próximos (Cohen & Kohn 2009), o que poderia facilitar as infestações por monogenóides da mesma espécie.

Em relação às infestações por protozoários ciliados, tricodinídeos do gênero *Trichodina* tiveram maior prevalência nas três propriedades, sendo maior na propriedade

“A” (P = 37,1%). Estes protozoários possuem ciclo de vida direto, o que facilita sua transmissão, principalmente em pisciculturas com alta densidade de estocagem, assim como ocorre com monogenóides. São oportunistas, e fixam-se na pele, nadadeiras e brânquias dos peixes, alimentando-se através de filtração do material orgânico presente na água (Pavanelli *et al.* 2008).

A ocorrência de organismos oportunistas está diretamente ligada a fatores capazes de causar estresse aos peixes, reduzindo assim, sua capacidade de resposta imunológica, tornando-os mais suscetíveis a infecções/infestações por patógenos (Kubtiza 2000; Pavanelli *et al.* 2008). Os fatores que podem ser considerados causadores de estresse são: má nutrição, qualidade de água inadequada (baixa concentração de oxigênio dissolvido e elevados níveis de amônia tóxica e nitrito), excessivo acúmulo de resíduos orgânicos nos tanques e viveiros, mudanças bruscas na temperatura, manejo inadequado, entre outros (Val, Silva & Val 2004). Sabe-se ainda que, tais fatores não são estanques, podendo ocorrer mais de um agente estressor simultaneamente. Os pacus coletados na propriedade “A” apresentaram maior abundância média destes protozoários quando comparados com as patingas, possivelmente por desequilíbrio e/ou associação de algum destes fatores.

Algumas espécies de peixes apresentam maior suscetibilidade a infecções/infestações por determinados parasitas, quando ainda são juvenis, seja por questões relacionadas ao sistema imunológico, fisiológico ou comportamental (Val *et al.* 2004; Pavanelli *et al.* 2008). A hibridação interespecífica tem como objetivo a criação de linhagens estéreis, com maior taxa de conversão alimentar, rápido desenvolvimento, rusticidade e resistência a patógenos. Assim, é possível que as patingas apresentem maior resistência às infestações causadas por protozoários, sobretudo, por tricodínídeos.

A ocorrência de patógenos, em geral, pode apresentar variações sazonais. A redução da temperatura durante o inverno (período seco) pode favorecer o desenvolvimento destes organismos devido ao estresse causado pelas baixas temperaturas, sobretudo em viveiros ou tanques com alta densidade de estocagem. Na engorda de peixes “B”, o aumento da intensidade média de infecção por tricodínídeos no período seco pode ter sido causada pela associação destes fatores. Ademais, neste período, ocorre baixa renovação de água no sistema, resultando no aumento da concentração de matéria orgânica nos viveiros, que

favorece o aumento da proliferação destes protozoários (Madsen, Buchmann & Møllergaard 2000; Pavanelli *et al.* 2008)

Ademais, após o inverno, ocorre a elevação na temperatura, favorecendo uma rápida multiplicação de alguns parasitas. Estes podem causar sérias infecções/infestações nos peixes ainda não recompostos do estresse causado pelas baixas temperaturas observadas no período seco (Pavanelli *et al.* 2008; Val *et al.* 2004). Este fato pôde ser observado em relação à infestação por *A. penilabiatum* no total de patingas analisadas (n = 61), que foi maior no período chuvoso.

A presença de protozoários ciliados também está diretamente associada à qualidade de água do sistema de produção (Takemoto *et al.* 2004; Pavanelli *et al.* 2008). A manutenção de peixes em viveiros com qualidade de água inadequada, com excessiva carga orgânica, pode resultar em mortalidade expressiva. No entanto, a associação de outros fatores causadores de estresse, como já mencionado, pode influenciar na ocorrência de patógenos, sobretudo, a alta densidade de estocagem, que favorece a ocorrência de parasitas de ciclo direto (Pavanelli *et al.* 2008).

Independente das características produtivas de cada local, de maneira geral, a água apresentou qualidade aceitável para a produção de pacus (Boyde 1990; Ostrensky & Boeger 1998; Kubtiza 1999; Urbinati *et al.* 2010) durante todo o período de amostragem, salvo algumas exceções. Não há na literatura dados específicos sobre as exigências para criação do híbrido patinga, porém, por ser resultante do cruzamento entre duas espécies do gênero *Piaractus*, os dados referentes à qualidade da água dos viveiros serão interpretados de forma semelhante para ambas.

A temperatura da água apresentou-se abaixo da média ideal ao cultivo de pacus (20 a 30 °C, segundo Ostrensky & Boeger 1998), durante os meses de junho e agosto na propriedade “A” (19,8°C em ambos os meses) e agosto (19,6°C), na propriedade “B”, que correspondem a meses do período seco na região, na qual verifica-se queda da temperatura. Em alguns meses, a concentração de amônia ionizada (NH₄⁺) estava acima do limite ideal de acordo com Kubtiza (1999) e Boyde (1990) (NH₄⁺ < 0,6 mgL⁻¹), a considerar: fevereiro de 2010 nas propriedades “A” e “C” (NH₄⁺ = 1,2 mgL⁻¹; NH₄⁺ = 1,8 mgL⁻¹ - respectivamente); outubro (NH₄⁺ = 1,8 mgL⁻¹) somente em “C”, e dezembro, na propriedade “B” (NH₄⁺ = 1,8

mgL⁻¹). Quanto à concentração de nitrito, a propriedade “B” e “C” apresentaram valores acima dos recomendados em alguns meses. Segundo Kubitza (1999), o ideal é que a concentração de nitrito esteja abaixo de 0,3 mgL⁻¹, no entanto, nos meses de junho e agosto na propriedade “B”, e em outubro, na “C”, esta concentração chegou a 0,7 mgL⁻¹.

Nas propriedades amostradas, há baixa renovação de água no sistema, o que pode influenciar na fluatibilidade das características físico-químicas da água, sobretudo na transparência, temperatura, concentração de compostos nitrogenados (amônia/nitrito) e concentração de oxigênio dissolvido. Ainda, na propriedade “C”, não realiza-se o vazão sanitário regularmente, o que favorece o acúmulo de nutrientes e o aumento do processo de decomposição no fundo do viveiro, também observado por Lizama, Takemoto, Ranzani-Paiva, Ayroza & Pavanelli (2007) em pisciculturas da região de Assis, São Paulo.

A alta densidade de peixes e a falta de controle de estoque, observada nas propriedades “B” e “C”, relacionadas ao tipo de atividade que estas propriedades exercem, também favorecem o acúmulo de matéria orgânica e compostos nitrogenados na água. O fornecimento de rações comerciais em grande quantidade, favorece o aumento da fertilização dos viveiros e acúmulo de matéria orgânica, sendo geralmente observado em propriedades que realizam a engorda de peixes (Lizama *et al.* 2007), bem como em “pesquepagues”, onde o manejo alimentar é feito de forma inadequada, facilitando as infecções/infestações por patógenos. O próprio parasitismo e a interação com outros animais da mesma espécie ou de espécies diferentes podem estressar os peixes, particularmente aqueles mantidos em cativeiro e em alta densidade de estocagem (Val *et al.* 2004), o que reforça também os maiores índices de parasitismo nas propriedades “B” e “C”.

Em relação aos mixosporídeos, no geral, os pacus coletados na propriedade “A” apresentaram alta prevalência de *Henneguya* spp. (P = 25,0%) e *Myxobolus* spp. (P = 18,7%). Algumas espécies de parasitas acometem mais severamente peixes de uma determinada faixa de desenvolvimento (larva/pós-larva/juvenil/adulto) (Kubitza 2000), como os analisados na propriedade “A”. Isso ocorre uma vez que estes parasitas podem se alojar no tecido cartilaginoso (incluindo a cartilagem próxima aos tecidos cerebrais), destruir nervos cerebrais ligados a coordenação motora, além de causar lesões na coluna vertebral (Pavanelli *et al.* 2008; Kubitza 2000).

Em condições de cultivo, a infecção/infestação por mixosporídeos pode ser facilitada pelo acúmulo de resíduos orgânicos e pela presença de hospedeiros intermediários (oligoquetas) nas unidades de produção, sobretudo em propriedades que utilizam viveiros escavados, como as analisadas neste estudo. Algumas espécies de mixosporídeos já foram descritas parasitando pacus, como é o caso de *Henneguya lutzi* Cunha & Fonseca, *Henneguya piaractus* Martins & Souza, *Henneguya pelucida* Adriano, Arana & Cordeiro, *Myxobolus colossomatis* Molnár & Békési e *Myxobolus cuneus* Adriano, Arana & Cordeiro (Adriano, Arana & Cordeiro 2006; Eiras, Takemoto & Pavanelli 2008). Este é o primeiro relato de ocorrência dos parasitas *Henneguya* sp. e *Myxobolus* sp. no híbrido patinga.

Peixes sadios e aparentemente não infectados podem ser portadores dos esporos de mixosporídeos (Kubitza 2000). Martins, Souza, Moraes, Moraes, Costa & Rocha (1997) estudaram a patologia e efeitos comportamentais em *P. mesopotamicus* de criação e observaram, nos estudos histológicos, hemorragia e vários focos de inflamação no epitélio branquial dos peixes infectados por *Henneguya* sp. No presente trabalho, nenhum dos peixes analisados apresentava sinais clínicos aparente de infecção/infestação por mixosporídeos. Apenas em análise laboratorial, utilizando-se microscópio óptico, foi possível verificar-se a presença de centros melanomacrófagos nos espécimes infectados por estes parasitas. Os centros melanomacrófagos são capazes de fagocitar patógenos resistentes como esporos e bactérias, podendo assim, estar associados à presença intracelular de bactérias ácido resistentes, como micobactéria, e parasitos como *Myxobolus* spp. (Roberts 1975). Há evidências de que os centros melanomacrófagos desempenham papel relevante no controle de infecções por mixosporídeos (Supamattaya, Fischer-Scherl, Hoffmann & Boonyaratpalin 1993; Campos, Moraes & Moraes 2008).

Quanto às infecções por nematóides em peixes da propriedade “C – Pesque-pague” foi possível observar que os valores de prevalência, intensidade média de infecção e abundância média de *R. rondoni* foi consideravelmente maior do que os valores observados para as larvas de *Contracaecum* sp., sobretudo nos pacus analisados. Este fato ocorreu uma vez que o ciclo de vida de *R. rondoni* é monoxeno, no qual a multiplicação se dá no interior do próprio hospedeiro, sem fase de vida livre (Moravec 1998). No ciclo, fêmeas vivíparas dão origem a larvas que evoluem sem chegar ao meio exterior. A proliferação é intensa,

sendo um grande número de parasitas (larvas e adultos) eliminados com as fezes, para o meio líquido em que vive o hospedeiro, permitindo assim, a contaminação do ambiente, bem como a infecção de novos hospedeiros (Moravec 1998).

Apesar de ocorrer em número elevado, *R. rondoni* parece não provocar danos significativos aos seus hospedeiros (Martins & Urbinati 1993). Porém, quando ocorrem com alta intensidade de infecção podem levar a processos de obstrução intestinal, bloqueando a passagem de alimento no trato digestório (Thatcher 2006; Parra, Brandão & Ceccarelli 1997). Altas intensidades de *R. rondoni* em *P. mesopotamicus* foram registradas por Kohn, Fernandes, Macedo & Abramson (1985). Parra *et al.* (1997) encontraram apenas *R. rondoni* parasitando *P. mesopotamicus* criados em viveiros, com prevalência parasitária de 71,0%, inferior a observada neste estudo (P = 89,3%).

Os nematóides da família Anisakidae Railliet & Henry são parasitas de organismos aquáticos, como peixes, mamíferos marinhos e aves piscívoras. Nematóides adultos do gênero *Contracaecum* parasitam o intestino de aves piscívoras e de mamíferos marinhos (Moravec 1998). Nos peixes, as larvas de terceiro estágio (L3) localizam-se nas serosas viscerais e podem migrar para a musculatura, onde se encistam e, se ingeridas, constituem um risco potencial sob o ponto de vista de saúde pública uma vez que podem causar, em humanos, uma doença conhecida como anisakiase (Tavares & Alejos 2006). A transmissão desta doença está associada ao consumo de carne de peixe crua ou mal cozida contendo as larvas de terceiro estágio destes parasitas (forma infectante) (Tavares & Alejos 2006; Thatcher 2006; Moravec 1998).

No presente trabalho não foram encontradas larvas encistadas na musculatura dos peixes analisados. Este dado é extremamente relevante, tendo em vista a importância comercial e alimentar que esta espécie representa, e por ter sido encontrada em peixes de um estabelecimento que comercializa diretamente a carne do pescado.

Na propriedade “C”, onde estas larvas foram encontradas, não realiza-se o vazio sanitário regularmente, como já mencionado. O esvaziamento completo do viveiro, seguido de sanitização utilizando-se produtos como cal, é uma das formas mais eficazes para se eliminar/controlar ovos, larvas e adultos dos parasitas que podem estar presentes no ambiente, além de controlar as populações de alguns hospedeiros intermediários (Rojas

2006). Além disso, o arraçoamento é feito apenas uma vez na semana para viabilizar a atividade da pesca no estabelecimento. Desta forma, os peixes se alimentam de outros itens presentes no ambiente, tais como gastrópodes, anelídeos, insetos e copépodos. Estes invertebrados podem servir como hospedeiros intermediários para uma série de parasitas, incluindo nematóides da família Anisakidae, como é o caso *Contracaecum* sp., facilitando assim a infecção por estes parasitas. A presença de aves piscívoras ao redor dos viveiros, além de possibilitar a entrada de novos parasitas no sistema de produção, sobretudo, de endoparasitas, permite que estes completem seu ciclo biológico (Lizama *et al.* 2007). Assim, a utilização de telas de proteção ao redor dos viveiros, é uma medida pertinente para prevenção desta parasitose.

Neste estudo, *P. mesopotamicus* é descrito como um novo hospedeiro para larvas de terceiro estágio de *Contracaecum* sp. ampliando, assim, o conhecimento da relação parasita-hospedeiro e da distribuição geográfica destas espécies de helmintos.

Alguns dos parasitas foram observados nas três propriedades amostradas (*A. penilabiatus*, *M. viatorum*, *Trichodina* spp., *I. multifiliis*, *Henneguya* spp. e *Myxobolus* spp.), indicando um dos aspectos epidemiológicos representado pelo transporte de peixes entre as propriedades que fazem parte da cadeia produtiva.

O transporte de peixes entre as pisciculturas pode atuar como elemento disseminador de agentes com potencial patogênico (Martins, Onaka, Moraes, Bozzo, Paiva & Gonçalves 2002). Ademais, também atua como elemento estressante, uma vez que os animais ficam expostos a baixa concentração de oxigênio dissolvido na água, alta concentração de amônia, variações bruscas de temperatura e pH, predispondo-os a várias enfermidades parasitárias e infecciosas (Martins *et al.* 2000; 2002).

Apesar da escassez de dados sobre a epidemiologia na cadeia produtiva de peixes, sabe-se que o manejo profilático, que envolve: desinfecção periódica dos tanques, desinfecção dos peixes (ovos, jovens e adultos) e funcionários da piscicultura, esterilização dos instrumentos, quarentena, transporte em condições controladas, banhos terapêuticos, associados ao controle de estocagem e monitoramento da qualidade de água nos viveiros e tanques de pisciculturas, são medidas imprescindíveis para o controle de patógenos. No presente estudo, a alta densidade de estocagem observadas nas propriedades “B” e “C” teve

grande influência sobre as taxas de parasitismo. Em “C”, ainda verifica-se a influência da coexistência de diferentes espécies de peixes no mesmo viveiro, bem como a não desinfecção periódica dos tanques, que propicia a contaminação do viveiro com ovos e larvas de parasitas, bem como o desenvolvimento de organismos que servem como hospedeiros intermediários para parasitas de ciclo heteroxeno (oligoquetas, moluscos, crustáceos, entre outros).

Referências bibliográficas

- Adriano, E.A., Arana, S. & Cordeiro, N.S. (2006) *Myxobolus cuneus* n. sp. (Myxosporea) infecting the connective tissue of *Piaractus mesopotamicus* (Pisces: Characidae) in Brazil: Histopathology and Ultrastructure. *Parasite* **13**, 137-142.
- Andrade, C.M. (2000) *Meios e soluções comumente empregados em laboratórios*, pp.353. Editora Universidade Rural, Rio de Janeiro.
- Belmont-Jégu, E., Domingues, M. V. & Martins, M.L. (2004) *Notozothecium janauachensis* n. sp. (Monogenoidea: Dactylogyridae) from wild and cultured tambaqui, *Colossoma macropomum* (Teleostei: Characidae: Serrasalminae) in Brazil. *Zootaxa*, **736**, 1–8.
- Boeger, W.A, Piasecki, W. & Sobocka, E. (2002) Neotropical monogenoidea. 44. *Mymarothecium viatorum* sp. n. (Ancyrocephalinae) from the gills of *Piaractus brachypomus* (Serrasalmidae, Teleostei) captured in a warm-water canal of a Power Plant in Szczecin, Poland. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* **32**, 157-162.
- Boeger, W.A., Husack, W.S. & Martins, M. L. (1995). Neotropical monogenoidea. 25. *Anacanthorus penilabiatus* (Dactylogyridea: Anacanthirinae) from *Piaractus mesopotamicus*, cultivated in the State of São Paulo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **90**, 699-701.
- Bush, A. O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M. & Shostak, Aw. (1997) Parasitology Meets Ecology On Its Own Terms: Margolis et Al. Revisited. *Journal of Parasitology* **83**, 575-583.
- Campos, C.M., Moraes, J.R.E & Moraes, F.R. (2008) Histopatologia de fígado, rim e baço de *piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum*

- parasitados por myxosporídios, capturados no Rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **17**, 200-205.
- Cohen, S.C. & Kohn, A. (2005) A new species of *Mymarothecium* and new host and geographical records for *M. viatorum* (Monogenea: Dactylogyridae), parasites of freshwater fishes in Brazil. *Folia Parasitologica* **52**, 307–310.
- Cohen, S.C. & Kohn, A. (2009) On Dactylogyridae (Monogenea) of four species of characid fishes from Brazil. *Check List* **5**, 351–356.
- Dogiel, V. A. (1961) Ecology of the parasites of freshwater fishes. In: *Parasitology of fishes*. (ed. by V.A. Dogiel, G.K. Petrushevski & Y.I. Polyanski), pp. 1-47. University Press, Leningrad.
- Eiras, J.C., Takemoto, R.M. & Pavanelli, G.C. (2008) *Henneguya caudicula* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae) a parasite of *Leporinus lacustris* (Osteichthyes, Anostomidae) from the High Paraná River, Brazil, with a revision of *Henneguya* spp. Infecting South American Fish. *Acta Protozoologica* **47**, 149–154.
- 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.
- Genovez, L.W., Pilarski, F., Sakabe, R., Marques, M.P.A. & Moraes, F.R. (2008) Controle biológico de *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Boletim do Instituto de Pesca* **34**, 99 – 105.
- Kohn, A & Cohen, S.C. (1998) South American Monogenea - List of species, hosts and geographical distribution. *International Journal Parasitology* **28**, 1517-1554.
- Kohn, A., Fernandes, B.M.M., Macedo, B. & Abramson, B. (1985) Helminths parasites of freshwater fishes from Pirassununga, SP, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **80**, 327-336.
- Kubitza, F. (1999) *Qualidade da água na produção de peixes*, pp. 97. 3th. edn. F. Kubitza: Jundiaí.
- Kubitza, F. (2000) *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*, pp. 289. F. Kubitza: Jundiaí.
- Lizama, M. de los 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. 2. *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Acta Scientiarum Biological Science* **29**, 437-445.
- Luque, J.L. (2004) Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **13**, 161-164.
- Madsen, H.C.K.; Buchmann, K.; Møllergaard, S. (2000) *Trichodina* sp. (Ciliophora: Peritrichida) in eel *Anguilla anguilla* in recirculation systems in Denmark: host-parasite relations. *Diseases of Aquatic Organisms* **42**, 149–152.
- Martins, M.L., Souza, V.N., Moraes, F.R., Moraes, J.R.E., Costa, A.J. & Rocha, U.E. (1997) Pathology and behavioral effects associated with *Henneguya* sp. (Myxozoa: Myxobolidae) infections of captive pacu *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society* **28**, 297-300.
- Martins, M.L., Moraes, F.R., Fujimoto, R.Y., Onaka, E.M., Nomura, D.T., Silva, C.A.H. & Schalch, S.H.C. (2000) Parasitic infections in cultivated brazilian freshwater fishes. A survey of diagnosed cases from 1993 to 1998. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **9**, 23-28.
- Martins, M.L., Onaka, O.M., Moraes, F.R., Bozzo, F.R., Paiva, A.M.F.C. & Gonçalves, A. (2002) Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fishes in the state of São Paulo, Brazil. *Acta Scientiarum Animal Sciences* **24**, 981-985.
- Martins, M.L. & Urbinati, E.C. (1993) *Rondonia rondoni* Travassos, 1919 (Nematoda: Atractidae) parasite of *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae), in Brazil. *Acta Veterinária* **9**, 75-81.
- Moravec, F. (1998) *Nematodes of freshwater fishes of the neotropical region*, pp. 464. Praha, Czech Republic.
- Ostrensky, A. & Boeger, W. (1998) *Piscicultura: Fundamentos e técnicas de manejo*, pp. 211. Agropecuária Ltda, Guaíba.
- Pamplona-Basilio, M.C, Kohn, A. & Feitosa, V.A. (2001) New Host Records and Description of the Egg of *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea, Dactylogyridae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **96**, 667-668.

- Parra, J.E.G., Brandão, D.A. & Ceccarelli, P.S. (1997) Eficácia do fembendazole no controle de nematóides de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1987). *Ciência Rural* **27**, 297-299.
- Pavanelli, G. C., Eiras, J.C. & Takemoto, R. M. (2008) *Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*, pp.311. 3th edn. Eduem, Maringá.
- Roberts, R.J. (1975) Melanin-containing cells of the teleost fish and their relation to disease. In: *The Pathology of Fishes* (ed. by W. E. Ribelin & G. Migaki), pp. 339-428. University of Wisconsin Press, Madison.
- Rojas, N.E.T. (2006) Manejo da qualidade da água em viveiros de piscicultura continental. In: *Sanidade de organismos aquáticos no Brasil*. (org. by A.T. Silva-Souza), pp. 63-76. Abrapoa, Maringá, p.
- Supamattaya, K., Fischer-Scherl, T., Hoffmann, R.W. & Boonyaratpalin, S. (1993) Light and electron microscopic observations on presporogenic and sporogenic stages of *Sphaerospora epinepheli* (Myxosporea) in grouper (*Epinephellus malabaricus*). *Journal of Eukaryotic Microbiology* **40**, 71-80.
- Takemoto, R.M., Lizama, M. de los A.P., Guidelli, G.M. & Pavanelli, G.C. (2004) Parasitos de peixes de águas continentais. In: *Sanidade de organismos aquáticos*. (org. by M.J.T. Ranzani-Paiva, R.M. Takemoto & M. de los A.P. Lizama), pp. 179-198. Varela, São Paulo.
- Thatcher, V. E. (2006) *Amazon Fish Parasites*, pp. 509. Pensoft Publishers, Bulgaria.
- Thatcher, V. E. & Brites-Neto, J. (1994) Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária* **16**, 111-128.
- Tavares, L.E.R. & Alejos, J.L.F.L. (2006) Sistemática, biologia e importância em saúde coletiva das larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas de peixes ósseos marinhos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. In: *Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil*. (org. by A.T. Silva-Souza), pp. 387p.: Abrapoa, Maringá.
- Urbinati, E.C., Gonçalves, F.D. & Takahashi, L.S. (2010) Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: *Espécies nativas para piscicultura no Brasil* (org. by B. Baldisserotto & L.C. Gomes), pp. 205-244. 2nd edn. UFSM, Santa Maria.

- Val, A.L., Silva, M.N.P & Val, V.M.F.A. (2004) Estresse em peixes – ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: *Sanidade de organismos aquáticos*. (org. by M.J.T. Ranzani-Paiva, R.M. Takemoto & M. de los A.P. Lizama), pp. 75-88. Varela, São Paulo.
- Vazzoler, A.E.A. de M. (1996) *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*, pp.169. Eduem, Maringá,

Artigo 2

*Infeções microbianas na produção do pacu *Piaractus mesopotamicus* e do híbrido patinga no Noroeste Paulista, Brasil*

Artigo a ser submetido à revista Brazilian Journal of Microbiology

Resumo

Com o desenvolvimento da aquicultura no Brasil, a sustentabilidade desta atividade e a avaliação dos riscos a que estão submetidos os organismos cultivados, em especial aqueles representados pelas enfermidades, constituem preocupação crescente. O presente estudo avaliou a ocorrência de infecções microbianas na produção do pacu *Piaractus mesopotamicus* e do híbrido patinga (*P. mesopotamicus* x *P. brachypomus*) procedentes de pisciculturas da região Noroeste do Estado de São Paulo. Três propriedades foram amostradas bimestralmente: A - Reprodução e Larvicultura (pacu/patinga); B - Engorda (patinga) e C - Pesque-pague (pacu/patinga), durante o período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011. No total foram coletados 21 peixes/propriedade, dos quais foram isoladas colônias de bactérias a partir de amostras de rim e cérebro. Dentre os peixes analisados, 23,8% em “A” e “B” e 33,3% em “C”, estavam infectados com pelo menos um tipo de bactéria. A ocorrência de *Enterobacter* sp. nas patingas (n=33) foi maior no período seco ($p < 0,05$), possivelmente devido ao estresse causado pela redução da temperatura e baixa renovação de água no sistema. No antibiograma, cepas de *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas maltophilia* e *Aeromonas* sp. apresentaram resistência a todos antibióticos beta-lactâmicos testados, bem como para a tetraciclina. *Pseudomonas* sp. apresentou frequência de resistência de 66,7%, *S. maltophilia* de 75,0% e *Aeromonas* sp. 25,0%, ressaltando-se a importância da prescrição correta dos antibióticos na aquicultura e sua forma de administração, a fim de prevenir o desenvolvimento de cepas resistentes aos antibióticos disponíveis.

Palavras-chaves: pisciculturas, bactérias, resistência a antibióticos, sanidade, pacu, híbrido.

Abstract

This study evaluated the occurrence of microbial infections in “pacu” *Piaractus mesopotamicus* and hybrid “patinga” (*P. mesopotamicus* x *P. brachypomus*) from the Northwest of São Paulo State, Brazil. Fishes from three fish farms were evaluated every two months: A - Reproduction and larviculture (pacu / patinga), B - Growout (patinga) and C - Fee-fishing property (pacu / patinga). Twenty-one fishes from each fish farm were collected from February 2010 to February 2011 for microbiological analysis. The overall prevalence (P) of infections in the properties A, B, and C were 23.8%, 23.8, and 33.3%, respectively. The occurrence of *Enterobacter* sp. in patingas (n = 33) was higher in the dry season ($p < 0.05$), possibly due to stress caused by the decrease in temperature and low water renewal on the system. In antibiogram test, strains of *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas maltophilia* and *Aeromonas* sp. were resistant to all beta-lactam antibiotics tested, and to tetracycline. The frequency of resistance of *Pseudomonas* sp., *S. maltophilia* and *Aeromonas* sp. were 66.7%, 75% and 25%, respectively, highlighting the importance of correct prescription of antibiotics in aquaculture and its form of administration in order to prevent the development of resistant strains to available antibiotics.

Key words: fish farms, bacteria, antibiotic resistance, fish health, pacu, hybrid

Introdução

Com o desenvolvimento da aquicultura no Brasil, a sustentabilidade desta atividade e a avaliação dos riscos a que estão submetidos os organismos cultivados, em especial aqueles representados pelas enfermidades, constituem preocupação crescente (Silva-Souza, 2006).

O incremento de pesquisas e o surgimento de novas técnicas de criação em piscicultura ampliaram as alternativas referentes às espécies e linhagens de peixes a serem criadas, sobretudo em relação às espécies nativas, como é o caso do pacu *Piaractus mesopotamicus* e da pirapitinga *Piaractus brachypomus* (Genovez *et al.*, 2008; Baldisserotto & Gomes, 2010). Atualmente a maioria das linhagens de peixes geneticamente melhoradas destinadas a aquicultura, foram desenvolvidas por meio de métodos tradicionais de manipulação genética, que incluem seleção, hibridação e endogamia, como é o caso da patinga, resultante da hibridação interespecífica entre a fêmea (F1) de *P. mesopotamicus* e o macho (M1) de *P. brachypomus*.

Os principais fatores causadores de doenças e mortalidade em pisciculturas são o estresse fisiológico e injúrias físicas (Garcia *et al.*, 2009), que podem facilitar a ocorrência de infecções primárias e secundárias causadas por bactérias e fungos. A alta densidade populacional em tanques e viveiros de pisciculturas, a captura e transporte de peixes entre as propriedades produtoras, favorecem o surgimento e propagação de doenças responsáveis por elevadas taxas de mortalidade, representando perdas econômicas significativas (Ostrensky & Boeger, 1998). Ademais, as condições observadas em grande maioria das pisciculturas comerciais incluem baixa qualidade da água (baixa concentração de oxigênio dissolvido, níveis inadequados de pH e temperatura, elevadas concentrações de compostos nitrogenados e CO₂, além de grande quantidade de matéria orgânica), nutrição inadequada, bem como a presença de poluentes na água (Kubtiza, 1999, 2000). Tais fatores são capazes de induzir o estresse em peixes, favorecendo a ocorrência de doenças causadas por patógenos (Kubtiza, 1999, 2000; Garcia *et al.*, 2009).

Na tentativa de controlar doenças bacterianas em humanos e na produção animal, aumentou-se significativamente, o uso indiscriminado de antibióticos para profilaxia e tratamento de doenças, resultando em resistência de bactérias comensais e patogênicas a múltiplos agentes antimicrobianos (Carneiro *et al.*, 2007). Por este motivo, torna-se cada vez

maior a preocupação com o desenvolvimento de patógenos resistentes e o potencial risco desta resistência ser transferida a patógenos humanos através da ingestão de produtos e subprodutos animais contaminados, tornando-se um dos principais problemas de saúde pública (Chaudhury *et al.*, 1996; Rivera-Tapia, 2003, Carneiro *et al.*, 2007).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de infecções microbianas no pacu *P. mesopotamicus* e no híbrido patinga e determinar o perfil de resistência a substâncias com efeito antimicrobiano de bactérias isoladas em três pisciculturas da região Noroeste do Estado de São Paulo.

Material e métodos

Caracterização das propriedades

Três propriedades, que produzem peixes em viveiros escavados, foram amostradas: propriedade “A”, localizada no município de Estrela d’Oeste, (20°16’17.26’’ S 50°23’30.24’’ O), caracteriza-se por ser uma unidade de produção de larvas e juvenis de peixes. Nesta, a produção é, em sua grande maioria, representada pelo pacu *P. mesopotamicus*, pelo híbrido patinga e o tambaqui *Colossoma macropomum*, que são fornecidos às propriedades de engorda, incluindo a piscicultura “B”, quando atingem cerca de 20 a 30 g. Os peixes são estocados em baixa densidade, em viveiros com cerca de 6.000 m² de espelho d’água, e 2 m de profundidade. A propriedade “B”, localizada no município de Cosmorama (20°27’59.70’’ S 49°46’06.65’’ O), caracteriza-se por ser uma unidade de engorda de peixes. O viveiro apresenta cerca de 12.500 m² de espelho d’água, 3 m de profundidade e vazão da água de 5 L/s (baixa renovação da água). Os peixes são estocados em alta densidade (1,2 Kg/m²), e vendidos às pisciculturas do tipo “pesque-pague”, quando atingem entre 600 e 800 g. O híbrido patinga é o principal foco de produção, seguido da tilápia *Oreochromis niloticus*. A propriedade “C”, localizada no município de Votuporanga, (20°24’30.31’’ S 49°58’05.33’’ O), é uma piscicultura do tipo “pesque-pague”, na qual peixes de diversas espécies e seus híbridos dividem o mesmo viveiro, dentre eles o pacu, o híbrido patinga, pirapitinga, piau (*Leporinus* sp.), tilápia, entre outros. O viveiro tem 6.000 m² de espelho d’água, 2,8 m de profundidade, vazão da água de cerca de 3 L/s (baixa renovação). Não há efetivo controle da

densidade de estocagem, mas estima-se que haja mais de 10.000 Kg de peixe no viveiro em questão.

Procedimentos no campo e laboratório

As coletas foram realizadas no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011, totalizando sete coletas bimestrais. Foram coletados, três peixes de cada propriedade (A, B e C) por coleta, totalizando 63 peixes (21 peixes/propriedade), alternando aleatoriamente entre pacus e patingas.

Os peixes foram capturados com o auxílio de vara de pesca artesanal e/ou puçá, individualizados em sacos plásticos e mantidos em gelo. Em seguida, foram transportados para o laboratório, onde foram pesados, medidos e submetidos à análise microbiológica.

Para análise microbiológica, a superfície dos peixes foi desinfetada com álcool 70 % e as amostras dos órgãos de interesse (rim e cérebro) foram colhidas de forma asséptica, e então, realizado o plaqueamento do material em ágar MacConkey e BHI adicionado de 1% de Agar Agar e 5% de sangue ovino, incubados por 24-48 horas a 30 °C. Colônias suspeitas foram submetidas à coloração de Gram e testes preliminares, como catalase e oxidase, além de análise da morfologia, coloração das colônias, produção de pigmentos e atividade hemolítica. A identificação das bactérias foi realizada por provas bioquímicas, utilizando-se os kits API 20 E e API 20 Strep, Biomerieux®, mais provas complementares.

Para determinação do perfil de resistência aos antibióticos realizou-se o antibiograma (método de Bauer-Kirby), com difusão de discos de antibióticos em ágar de Mueller-Hinton (Difco). Os antibióticos avaliados foram florfenicol (FLF, 30 µm – CEFAR, Brasil), amoxicilina (AMO, 10 µm), sulfazotrim (SUT, 25 µm – CECON, Brasil), tetraciclina (TET, 30 µm), neomicina (NEO, 30 µm), norfloxacina (NOR, 10 µm), ampicilina (AMP, 10µm), gentamicina (GEN, 10 µm), ácido nalidíxico (NAL, 30 µm), penicilina G (PEN, G10 U.L), cloranfenicol (CLO, 30 µm – Laborclin, Brasil) e estreptomicina (EST, 10 µm).

Utilizando-se *swabs* estéreis, as amostras de bactérias selecionadas foram estriadas em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton. Os discos de antibióticos foram colocados na superfície do ágar, utilizando-se pinças previamente flambadas. As placas foram incubadas a 28-30 °C durante 18-24 horas. Após a incubação, os diâmetros dos halos de inibição foram

mensurados e comparados com a tabela de performance padrão para testes de susceptibilidade a antibióticos e, então, as bactérias foram classificadas como sensíveis ou resistentes. A frequência de resistência aos antibióticos (F.R.) foi calculada pela fórmula: (número de antibióticos cuja cepa apresentou resistência/número total de antibióticos) x 100.

No momento da coleta dos peixes, foram obtidas amostras de água em cada viveiro e submetidas à avaliação físico-química. Foram avaliados *in situ* alguns fatores físico-químicos da água, tais como o oxigênio dissolvido e temperatura, ambos medidos com aparelho multissensor de marca “YSY – Mod.50”; e transparência da água, por meio do Disco de Secchi. O pH, concentração de nitrito e amônia foram obtidos através da utilização de Kit colorimétrico AlfaKit®.

Os cálculos referentes à prevalência das bactérias foram feitos de acordo com Bush *et al.* (1997). Os meses de coleta foram classificados em “seco” ou “chuvoso” com base em informações sobre a pluviosidade mensal acumulada (mm) disponível no site do Boletim Agrometeorológico CIIAGRO (www.ciiagro.sp.gov.br/CIIAGROonline), sendo o período seco de abril a setembro, e outubro a março, chuvoso.

A proporção de peixes infectados foi comparada entre os períodos seco e chuvoso, considerando-se pacus e patingas coletados em cada propriedade, bem como entre a soma de pacus e patingas, independente da propriedade amostrada, empregando-se o teste de proporção (Z-test). Os testes de proporção foram calculados pelo software Sigma Stat 3.1. Em toda análise estatística o índice de significância adotado foi de 5%.

Resultados

Na propriedade “A – Reprodução e Larvicultura” foram coletados 12 pacus e 9 patingas, com peso de $66,7 \pm 25,7$ (11-257) g e $33,2 \pm 9,6$ (10,0-81,1) g, comprimento total de $13,2 \pm 1,4$ (7,9-22,3) cm e $11,7 \pm 1,2$ (7,9-16,9) cm e comprimento padrão de $11,1 \pm 1,2$ (6,8-19,2) cm e $9,5 \pm 0,9$ (6,5-13,3) cm, respectivamente. Na engorda de peixes (B), foram coletadas 21 patingas, pesando $1.312,0 \pm 108,4$ (418,4-2.950,0) g, comprimento total de $38 \pm 0,8$ (26,5-43) cm e comprimento padrão de $32,8 \pm 0,8$ (22,2-38,0) cm. No pesque-pague (C), foram coletados 18 pacus e 3 patingas, pesando em média $1.145,6 \pm 84,4$ (529,4-1942,5) g e $1.589,1 \pm 43,9$ (1.526,9-1673,9) g, comprimento total de $38,1 \pm 0,9$ (29,7-48,0) cm e $41,1 \pm$

1,1 (40,0-43,3) cm, e comprimento padrão de $32,7 \pm 0,8$ (25,8-39,5) e $35,3 \pm 1,3$ (34,0-37,8) cm, respectivamente.

Dos 21 peixes coletados em cada propriedade, 23,8% nas propriedades “A” e “B” e 33,3% da propriedade “C”, estavam infectados com pelo menos uma espécie de bactéria. Dados sobre a prevalência e o órgão do qual a colônia de cada espécie de bactéria foi isolada estão representados na Tabela 1.

No geral, os peixes analisados na propriedade “C” apresentaram uma diversidade maior de bactérias, quando comparado com os peixes das demais propriedades.

Não foi observada diferença estatística entre as prevalências das bactérias de ocorrência comum entre os pacus e patingas analisados na propriedade “A”. Não foram comparados estatisticamente a prevalência das bactérias isoladas de pacus e patingas da propriedade “C” devido ao número reduzido de patingas coletadas nesta propriedade ($n = 3$). A falta de controle de estocagem de propriedades tipo “pesque-pague” dificultou a amostragem de patingas, que quase sempre se encontravam em número reduzido no viveiro.

Em relação às espécies de bactérias de maior importância para criações comerciais: *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* sp. e *Plesiomonas shigelloides* foi observada baixa prevalência nas três propriedades, com exceção de *Flavobacterium columnare*, que acometeu 22,2% dos pacus da propriedade “C”.

Nenhum dos peixes coletados apresentava sinais clínicos comumente observados em casos de infecção microbiana, tais como; hemorragia, fluido ascítico e distensão abdominal, sinais de desnutrição e anemia, exoftalmia, lesões na pele e/ou brânquias, ou septicemia, tampouco sinais comportamentais, como natação errática ou “boquejamento”.

Tabela 1. Prevalência (P) e órgão do qual foram isoladas colônias de bactérias de pacus *Piaractus mesopotamicus* e do híbrido patinga procedentes das propriedades “A- Reprodução e Larvicultura” (n = 12 pacus; n = 9 patingas); “B - Engorda” (n = 21 patingas) e “C – Pesque-pague” (n = 18 pacus; n = 3 patingas), localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Bactérias isoladas	Prevalência (%)		Órgão
	Pacu	Patinga	
Propriedade “A – Reprodução e Larvicultura”			
<i>Aeromonas</i> sp.	8,3	-	Cérebro
<i>Pseudomonas</i> sp.	-	11,1	Rim
<i>Flavobacterium columnare</i>	-	11,1	Rim
<i>Enterobacter</i> sp.	8,3	33,3	Rim
Propriedade “B – Engorda”			
<i>Pseudomonas</i> sp.	-	9,5	Cérebro/Rim
<i>Enterobacter</i> sp.	-	14,3	Rim
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	9,5	Rim
Propriedade “C- Pesque-pague”			
<i>Flavobacterium columnare</i>	22,2	-	Rim/Cérebro
<i>Aerococcus viridans</i>	5,5	-	Rim
<i>Aeromonas</i> sp.	5,5	-	Cérebro
<i>Enterobacter</i> sp.	5,5	33,3	Rim/Cérebro
<i>Enterococcus</i> sp.	5,5	-	Rim
<i>Serratia</i> sp.	11,1	-	Rim
<i>Streptococcus</i> sp.	5,5	-	Rim
<i>Pseudomonas</i> sp.	5,5	-	Rim
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5,5	66,6	Rim

Não houve diferença estatística quando comparadas as prevalências de bactérias, considerando-se todos os pacus (n = 30) e patingas (n = 33) analisadas, independentemente da propriedade na qual foram amostrados (Tabela 2). Em relação à sazonalidade, a ocorrência de *Enterobacter* sp. nas patingas foi maior no período seco ($Z = 2,176$, $p = 0,03$).

Tabela 2. Prevalência (P) de bactérias isoladas de pacus (n=30) e patingas (n=33) procedentes das propriedades “A- Reprodução e Larvicultura”, “B – Engorda” e “C – Pesque-pague”, localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Bactérias isoladas	Prevalência (%)	
	Pacu	Patinga
<i>Aeromonas</i> spp.	6,7	9,1
<i>Pseudomonas</i> spp.	3,3	6,0
<i>Flavobacterium columnare</i>	13,3	3,0
<i>Enterobacter</i> spp.	6,6	21,2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	6,0
<i>Aerococcus viridans</i>	3,3	-
<i>Enterococcus</i> spp.	3,3	-
<i>Serratia</i> sp.	6,7	-
<i>Streptococcus</i> sp.	3,3	-
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	3,3	6,0

Em relação ao teste de resistência a substâncias de ação antimicrobiana, apenas três cepas de bactérias foram submetidas ao teste, uma vez que, para a maioria das bactérias, não foi obtido sucesso na preservação das colônias *in vitro*. Foram submetidas ao antibiograma, cepas de *Pseudomonas* sp., isoladas de rim de pacus da propriedade “A”, *Stenotrophomonas maltophilia*, isolada de rim de patingas da propriedade “B” e *Aeromonas* sp., isolada de cérebro de pacu da propriedade “C”. Todas as cepas avaliadas apresentaram resistência a antibióticos do grupo dos beta-lactâmicos, tais como a penicilina, amoxicilina e ampicilina, bem como para a tetraciclina. *Pseudomonas* sp. apresentou resistência a oito tipos de antibióticos (F.R. = 66,7%), e sensibilidade a apenas um tipo (neomicina), dentre os 12

antibióticos avaliados. Já *S. maltophilia*, apresentou-se resistente a nove tipos (F.R. = 75,0%), sendo sensível apenas a florfenicol e norfloxacin. Enquanto que, *Aeromonas* sp., mostrou-se resistente a todos os beta-lactâmicos testados (penicilina, ampicilina e amoxicilina) (F.R. = 25,0%), e sensíveis a nove antibióticos, a considerar: florfenicol, sulfazotrim, tetraciclina, neomicina, norfloxacin, gentamicina, ácido nalidíxico, cloranfenicol e estreptomicina. Os demais padrões observados encontram-se esquematizados na Tabela 4.

Tabela 3. Variação sazonal da prevalência (P) de bactérias isoladas de pacus (n = 30) e patingas (n = 33) procedentes das propriedades “A- Reprodução e Larvicultura”, “B – Engorda” e “C – Pesque-pague”, localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Bactérias isoladas	P(%) - Pacu		P(%) - Patinga	
	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
<i>Aeromonas</i> spp.	15,4	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp.	7,7	-	14,3	5,3
<i>Flavobacterium columnare</i>	23,1	5,9	-	5,3
<i>Enterobacter</i> spp.	15,4	-	42,8*	5,3*
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	5,9	14,3	-
<i>Aerococcus viridans</i>	-	5,9	-	-
<i>Enterococcus</i> spp.	-	5,9	-	-
<i>Serratia</i> sp.	-	11,8	-	-
<i>Streptococcus</i> sp.	-	5,9	-	-
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	7,7	-	14,3	-

* Diferença estatística significativa ($p < 0,05$)

Tabela 4. Perfil e frequência de resistência a antibióticos de cepas de bactérias isoladas nas propriedades “A- Reprodução e Larvicultura”; “B – Engorda” e “C – Pesque-pague”, localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil, e submetidas ao antibiograma.

	Propriedades		
	A	B	C
Bactérias	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Aeromonas</i> sp.
Meio de cultura/órgão	MacConkey/rim	Columbia/rim	MacConkey/cérebro
Hemólise	Não	Não	Sim
Antibióticos	Perfil de resistência		
FLF	I	S	S
AMO	R	R	R
SUT	R	R	S
TET	R	R	S
NEO	S	R	S
NOR	R	S	S
AMP	R	R	R
GEN	R	R	S
NAL	R	I	S
PEN	R	R	R
CLO	I	R	S
EST	I	R	S
F.R (%)	66,7	75,0	25,0

Perfil de resistência: S – Sensível; I – Intermediário; R – Resistente. Antibióticos: FLF - Florfenicol, AMO - Amoxicilina, SUT - Sulfazotrim, TET - Tetraciclina, NEO - Neomicina, NOR - Norfloxacin, AMP – Ampicilina, GEN - Gentamicina, NAL - Ácido Nalidíxico, PEN - Penicilina, CLO - Cloranfenicol e EST - Estreptomicina. F.R.: Frequência de resistência.

De forma geral, em todas as propriedades amostradas, a água apresentou qualidade aceitável para a produção de peixes tropicais, segundo Boyde (1990), Kubitza (1999), Ostrensky & Boeger (1998) e Urbinati *et al.* (2010), salvo algumas variações observadas na temperatura da água, concentração de amônia ionizada (NH_4^+) e nitrito (Tabela 5).

Tabela 5. Análise da qualidade da água referente às coletas realizadas no período de fevereiro a dezembro de 2010 nas propriedades “A- Reprodução e Larvicultura”; “B – Engorda” e “C – Pesque-pague”, localizadas na região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. (Valores expressos em média \pm erro padrão).

Parâmetros	A	B	C	Valores de Referência
Temperatura (°C)	25,7 \pm 1,5 (19,8-29,5)	25,8 \pm 1,6 (19,6-31,2)	26,4 \pm 1,5 (20,4-30,1)	20-30 ¹
Transparência (cm)	27 \pm 3,9 (18-43)	32,8 \pm 4,4 (13-45)	36,7 \pm 2,4 (26-44)	25-45 ¹
O ₂ D* (mg.L ⁻¹)	5,8 \pm 0,5 (4-7,2)	3,9 \pm 0,5 (2,1-5,5)	4,7 \pm 0,8 (1,9-7,6)	3-10 ^{2,3}
Amônia total NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	0,3 \pm 0,15 (0-1,2)	0,4 \pm 0,2 (0-1,8)	0,6 \pm 0,3 (0-1,8)	<0,6 ³
Nitrito (mg.L ⁻¹)	0,06 \pm 0,02 (0-0,16)	0,2 \pm 0,1 (0-0,7)	0,13 \pm 0,09 (0-0,7)	<0,3 ³
pH	7,5 \pm 0,1 (7-8)	7,3 \pm 0,2 (7-8)	7,3 \pm 0,09 (7-7,5)	6-8 ³
Amônia tóxica NH ₃ (mg.L ⁻¹)	0,0076 \pm 0,004 (0-0,03)	0,01 \pm 0,007 (0-0,05)	0,01 \pm 0,007 (0-0,04)	<0,2 ³

¹ Ostrensky & Boeger (1998); ²Urbinati *et al.* (2010): valores de referência específicos para a produção de pacu; ³ Kubitza (1999): valores de referência para espécies em geral.

A temperatura da água estava mais baixa durante os meses de junho e agosto na propriedade “A” (19,8 °C em ambos os meses) e agosto (19,6 °C), na propriedade “B”. A concentração de amônia ionizada (NH₄⁺) estava alta nos meses de fevereiro de 2010 nas propriedades “A” e “C” (NH₄⁺= 1,2 mg.L⁻¹; NH₄⁺= 1,8 mg.L⁻¹ - respectivamente); outubro (NH₄⁺= 1,8 mg.L⁻¹) somente em “C”, e dezembro, na propriedade “B” (NH₄⁺= 1,8 mg.L⁻¹). Quanto a concentração de nitrito, nos meses de junho e agosto na propriedade “B”, e em outubro, na “C”, esta concentração chegou a 0,7 mg.L⁻¹. Os demais valores estavam dentro dos limites aceitáveis em todas as propriedades, durante todo o período da pesquisa.

Discussão

Pelo fato de serem de fácil disseminação e, em sua grande maioria, apresentarem um caráter oportunista, as bactérias são consideradas importantes patógenos nas pisciculturas (Pavanelli *et al.*, 2008). Muitas bactérias estão presentes naturalmente em ecossistemas aquáticos, incluindo os viveiros artificiais destinados à criação de peixes. Algumas ainda fazem parte da flora microbiana natural de organismos associados a ambientes aquáticos, tais como peixes, répteis, anfíbios, aves, mamíferos, moluscos, crustáceos e plantas (Buller, 2004). Estas bactérias normalmente convivem em equilíbrio com seus hospedeiros, no entanto, em situações em que há a combinação de um agente infeccioso e alguma forma de estresse ambiental e/ou fisiológico, pode resultar no desenvolvimento de enfermidades devido ao desequilíbrio desta relação, e conseqüentemente, implicará em prejuízos econômicos, incluindo infecções e mortalidade (Buller, 2004).

Em pisciculturas, vários fatores associados ao manejo dos animais podem facilitar a ocorrência de infecções bacterianas, tais como: má nutrição, qualidade de água inadequada (baixo oxigênio dissolvido, elevados níveis de amônia tóxica e nitrito, alterações de pH), excessivo acúmulo de resíduos orgânicos nos tanques e viveiros, mudanças bruscas na temperatura, manejo inadequado, transporte, entre outros fatores que possam expor os animais ao estresse (Val *et al.*, 2004; Pavanelli *et al.*, 2008). Portanto, somente a detecção da presença de bactérias, muitas vezes, não é indicativo de doença. Todavia, o estresse, presente nos sistemas de cultivo intensivos, é o principal fator contribuinte nos surtos de doenças causadas por esses agentes etiológicos (Cipriano & Bullock, 1984).

A microbiota bacteriana presente na água é bem diversificada e depende exclusivamente das condições físico-químicas do ambiente aquático, principalmente de temperatura, pH, salinidade e grau de eutrofização do sistema (Austin & Austin, 1989). Devido a grande quantidade de matéria orgânica presente nos viveiros de piscicultura há um grande número de bactérias que se multiplicam rapidamente nesses ambientes, podendo desencadear enfermidades em peixes ou em pessoas com sistema imune debilitado (Buller, 2004; Morita *et al.*, 2006). Assim, a densidade de peixes nos viveiros e tanques de piscicultura, bem como fatores relacionados ao manejo, como o tipo e quantidade de ração empregada, renovação da água e o controle da sua qualidade, uso de fertilizantes para

incremento da produção heterotrófica, entre outros fatores, influenciam diretamente a multiplicação e disseminação destas bactérias.

As bactérias que ocorrem em peixes estão diretamente relacionadas àquelas presentes no ambiente em que eles estão inseridos (Austin, 2006). Bactérias presentes no ambiente podem penetrar pela boca dos peixes, através da ingestão de água ou partículas de alimento e alcançar o trato digestivo (Morita *et al.*, 2006). Algumas podem se tornar microbiota residente e outras podem ser destruídas pela ação digestiva ou atravessar o intestino e ser eliminadas através das fezes. Podem ainda, se instalar em ferimentos ou outras aberturas, como as brânquias, que estão em contato direto com o ambiente, muitas vezes causando infecções primárias ou secundárias (Buller, 2004).

Bactérias que habitam naturalmente os ambientes aquáticos e/ou terrestres podem ser isoladas de amostras de água, solo, plantas e fezes de animais tais como as pertencentes aos gêneros *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Plesiomonas*, *Stenotrophomonas*, *Flavobacterium* e *Streptococcus* (Buller, 2004; Austin, 2006). Em peixes, a patogenia destas bactérias geralmente está associada a quadros de septicemia, lesões hemorrágicas, acúmulo de líquido ascítico na cavidade abdominal, necrose, podendo causar distúrbios comportamentais, como a natação errática (Morita *et al.*, 2006; Pavanelli *et al.*, 2008). Algumas destas bactérias, tais como *Aeromonas* spp., podem em determinadas circunstâncias, ocasionar doenças em animais ou em indivíduos que vierem a consumir alimentos contaminados, como carne de pescado crua ou mal cozida, e sem os devidos cuidados de manipulação (Petersen & Dalsgaard, 2003; Morita *et al.*, 2006).

No Brasil, em pacus cultivados foi registrada a ocorrência de *F. columnare* (Pilarski *et al.*, 2008) e *Aeromonas hydrophila* (Costa & Cyrino, 2006). Não há relatos de infecções bacterianas no híbrido patinga, possivelmente por se tratar de uma linhagem relativamente recente.

Algumas bactérias, como as dos gêneros *Enterococcus*, *Enterobacter* e *Serratia*, também observadas neste estudo, são comensais, e vivem associadas ao trato digestivo de animais (Facklam *et al.*, 1999; Petersen & Dalsgaard, 2003). Mesmo estas bactérias que fazem parte da microbiota natural, também podem apresentar ação patogênica, em situações de desequilíbrio da relação patógeno-ambiente-hospedeiro (Anderson, 1992). Ademais, a

presença de enterobactérias, sugere a possibilidade de o ambiente de cultivo estar contaminado por microrganismos de origem fecal (Miranda & Zemelman, 2001), que pode ser de origem animal, incluindo fezes humanas.

Dentre as bactérias isoladas neste estudo, as mais importantes, em relação à frequência com que ocorrem e importância econômica na produção comercial, são as dos gêneros: *Aeromonas*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Plesiomonas* e *Flavobacterium*. Devido à capacidade de sobrevivência em diversos tipos de ambientes aquáticos, bem como a resistência a antibióticos e capacidade de acometer seres humanos, torna-se imprescindível o monitoramento da ocorrência de infecções causadas por estes agentes em peixes comercializados.

De modo geral, as bactérias isoladas no presente estudo apresentaram baixa prevalência, possivelmente porque, a água nas propriedades estudadas no período avaliado, estava dentro dos padrões aceitáveis para produção em viveiros, de acordo com parâmetros apresentados por Boyd (1990), Ostrensky & Boeger (1998), Kubitzka (1999) e Urbinati *et al.* (2010). Não há na literatura dados específicos sobre as exigências para criação do híbrido patinga, porém, por ser resultante do cruzamento entre duas espécies do gênero *Piaractus*, os dados referentes à qualidade da água dos viveiros foram interpretados de forma semelhante para ambas.

A temperatura da água apresentou-se abaixo da média ideal ao cultivo de pacus (20-30 °C, segundo Ostrensky & Boeger, 1998) durante os meses de junho e agosto na propriedade “A” e agosto na propriedade “B”, que correspondem a meses do período seco. Em alguns meses, a concentração de amônia ionizada (NH_4^+) observada nas três propriedades estava acima do limite ideal ($\text{NH}_4^+ < 0,6 \text{ mg.L}^{-1}$) de acordo com Boyde (1990) e Kubitzka (1999). O mesmo foi observado em relação à concentração de nitrito, que nas propriedades “B” e “C” também apresentou valores acima dos recomendados em alguns meses.

Estas variações observadas em todas as propriedades podem ser devido à baixa renovação de água no sistema, que pode influenciar na flutuabilidade das características físico-químicas da água, sobretudo na transparência, temperatura, concentração de compostos nitrogenados (amônia/nitrito) e concentração de oxigênio dissolvido (Kubitzka, 1999, 2000). Tais mudanças favorecem a ocorrência de infecções/infestações causadas por patógenos em

geral, uma vez que agem sobre a homeostase dos peixes, resultando em estresse e queda da resposta imune (Ostrensky & Boeger, 1998; Kubitzka, 1999, 2000). Ainda, a associação de outros fatores causadores de estresse, pode influenciar na ocorrência de patógenos, sobretudo, a alta densidade de estocagem, que reflete no acúmulo de matéria orgânica e compostos nitrogenados (Pavanelli *et al.*, 2008).

Na propriedade “C- pesque-pague”, o vazão sanitário não é realizado regularmente, o que também favorece o acúmulo de matéria orgânica e o aumento do processo de decomposição no fundo do viveiro (Lizama *et al.*, 2007). Ademais, o manejo alimentar é feito de forma inadequada, sendo o arraçoamento realizado apenas uma vez na semana, com grande descarga de ração comercial, com o intuito de viabilizar a atividade pesqueira no estabelecimento nos demais dias da semana. Desta forma, a falta de controle de estoque, nutrição deficiente, o acúmulo de matéria orgânica resultante dos restos de ração, relacionada ao tipo de atividade que esta propriedade exerce, bem como a interação com outros peixes da mesma espécie ou de espécies diferentes no mesmo viveiro, são fatores estressantes (Val *et al.*, 2004), e que reforçam o fato da ocorrência de maior diversidade de bactérias e outros patógenos observados nos peixes desta propriedade (Franceschini *et al.* 2011).

A ação patogênica de algumas bactérias, como *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas* spp., muitas vezes está associada ao excesso de matéria orgânica na água (Post, 1987) ou associa-se a infecção por outros patógenos, como no caso dos protozoários ciliados dos gêneros *Epistylis* e *Trichodina*, e infestações por monogenóides. A infestação por tais protozoários, também favorecem a ocorrência de *F. columnare*, que se instala nas lesões causadas pelos parasitas, ou por manejo inadequado (Kubitzka, 2000; Buller, 2004). A presença destes parasitas, com exceção de *Epistylis* sp., foi observada em alta prevalência e intensidade de infecção em pacus e patingas analisadas nas mesmas propriedades, o que pode ter favorecido a ocorrência das infecções bacterianas (Franceschini *et al.*, 2011).

Flavobacterium columnare apresentou maior prevalência em “C”, acometendo 22,2% dos pacus analisados. É o agente etiológico causador da columnariose, doença que acomete peixes de regiões tropicais e subtropicais, e geralmente se manifesta através de manchas despigmentadas/esbranquiçadas na pele, boca e nadadeiras, manchas avermelhadas ao redor das lesões, necrose e lesões branquiais (Jeney & Jeney, 1995; Kubitzka, 2000; Pilarski *et al.*,

2008). Epizootias causadas por *F. columnare* raramente ocorrem espontaneamente, estando quase sempre associadas a fatores causadores de estresses em situações de cultivo intensivo, causando grandes prejuízos econômicos em pisciculturas no mundo todo (Pilarski *et al.*, 2008). A maior prevalência deste agente observado na propriedade “C” pode ser devido ao estresse ao qual os peixes estão submetidos, seja pela alta densidade de estocagem ou pelo manejo inadequado (alimentar, sanitário e atividade de pesca).

O estresse causado pela queda da temperatura durante o inverno (período seco) pode favorecer a ocorrência de infecções bacterianas, sobretudo em viveiros ou tanques com alta densidade de estocagem (Pavanelli *et al.*, 2008; Val *et al.*, 2004). Infecções causadas pela bactéria comensal *Enterobacter* sp. foi maior no período seco nas patingas analisadas (n = 33), possivelmente pela associação do estresse resultante da queda da temperatura, e da alta densidade de estocagem, também observada na engorda (propriedade “B”), da qual eram procedentes a maioria das patingas analisadas. No entanto, a ocorrência destas bactérias pode também estar associada à contaminação externa, procedente, principalmente, de fezes de outros animais domésticos, como bovinos, suínos, equinos, aves, cães, entre outros, e que são carregados para os viveiros durante o período chuvoso. A maior ocorrência durante o período seco pode estar relacionada à baixa renovação da água, resultando na maior concentração dessas bactérias na água, com conseqüente contaminação do peixe e das amostras analisadas neste período.

O uso profilático de antibióticos na aquicultura tem-se tornado comum, principalmente em países em desenvolvimento, nos quais não há regulamentação para o uso destas substâncias em ambientes aquáticos (Carneiro *et al.*, 2007). A presença de resíduos de antibióticos favorece a seleção de bactérias resistentes que podem se inserir na cadeia alimentar humana por meio do pescado contaminado e transferir genes de resistência às bactérias da microbiota nativa ou potencialmente patogênicas para seres humanos (Ostrensky & Boeger, 1998; Hölmstrom *et al.*, 2003; Carneiro *et al.*, 2007).

Os antibióticos testados neste estudo representam classes de drogas importantes para a terapêutica na medicina humana e veterinária (Carneiro *et al.*, 2007). Todas as cepas avaliadas apresentaram resistência a antibióticos do grupo dos beta-lactâmicos, tais como a penicilina, amoxicilina e ampicilina, bem como para a tetraciclina. Estes antibióticos estão entre os mais

utilizados para tratamento de infecções microbianas em humanos e animais em geral. Ademais, estes produtos são amplamente empregados, por meio de aditivos alimentares ou pela administração direta, com o intuito de prevenir infecções microbianas em pisciculturas, o que favorece o desenvolvimento de bactérias resistentes a estas substâncias (Morita *et al.*, 2006; Carneiro *et al.*, 2007). No entanto, apenas o antibiótico florfenicol é registrado para o uso na aquicultura no Brasil (MAPA, Minist da Agricult.), ao qual *Aeromonas* sp. e *S. maltophilia* apresentaram-se sensíveis, e *Pseudomonas* sp. já apresenta um padrão intermediário.

A resistência a alguns antibióticos nas propriedades amostradas pode estar relacionada ao processo de lixiviação da água da chuva para os viveiros, com conseqüente carreamento de resíduos de medicamentos, defensivos agrícolas, fertilizantes, entre outros produtos químicos comumente utilizados nas culturas e criações animais adjacentes as propriedades avaliadas.

A presença de bactérias resistentes ou sensíveis à maioria dos antibióticos testados neste estudo sugere que, a utilização de forma indiscriminada destas substâncias com ação antimicrobiana, poderá exercer uma pressão seletiva, favorecendo a disseminação de linhagens resistentes (Miranda & Zemelman, 2002; Carneiro *et al.*, 2007). Assim, ressalta-se a importância da prescrição correta dos antibióticos, não somente na aquicultura, mas em qualquer tipo de cultura, seja de origem vegetal ou animal, e sua forma de administração, a fim de prevenir o desenvolvimento de cepas resistentes aos antibióticos disponíveis.

A presença de bactérias resistentes a antibióticos em peixes comercializados nas propriedades analisadas, possuem implicações ecológicas e para a saúde pública (Miranda & Zemelman, 2002). A seleção de linhagens altamente resistentes à ação de substâncias antimicrobianas pode causar grandes prejuízos econômicos em produções comerciais, e eventualmente, contaminar outros ambientes e animais, incluindo o homem, através da água, solo e pela cadeia alimentar.

Costa e Cyrino (2006) isolaram cepas de *A. hydrophila* de *P. mesopotamicus* e *O. niloticus* cultivados, e observaram que, as bactérias isoladas tanto de pacus como de tilápias, apresentaram comum resistência a sete dos dezessete antibióticos testados (amoxicilina, ampilina, lincomicina, nevobiocina, oxacilina, penicilina e trimetoprim+sulfametoxazol),

além de resistência intermediária a eritromicina. Os autores ainda verificaram que o isolado bacteriano de pacu foi a única linhagem resistente a tetraciclina.

É possível afirmar que, características relacionadas ao tipo de atividade exercida por cada propriedade durante o ciclo produtivo (reprodução-engorda-pesca), tais como a densidade de peixes nos viveiros, manejo alimentar, qualidade de água, diversidade de espécies de peixes no mesmo viveiro, podem influenciar a diversidade de bactérias que fazem parte da microbiota natural dos peixes, bem como a ocorrência de patogenias associadas ao desequilíbrio da relação patógeno-ambiente-hospedeiro. Estudos relacionados ao uso de antibióticos na aquicultura devem ser realizados, com o intuito de investigar os possíveis efeitos sobre a microbiota comensal de peixes e de outros organismos cultivados, além de evitar o risco da presença de resíduos nos alimentos destinados ao consumo humano. (Carneiro *et al.*, 2007). Ademais, o desenvolvimento de programas destinados à informação e divulgação de pesquisas, bem como o monitoramento da saúde dos animais e das condições sanitárias da instalação na qual estes são criados, realizadas por profissionais capacitados, são medidas que contribuem para a diminuição da ocorrência de patógenos, e consequentemente, da necessidade de utilização de substâncias químicas nas criações comerciais.

Referências bibliográficas

- Anderson, D.P.; Jeney, G. (1992). Immunostimulants added to injected *Aeromonas salmonicida* bacterin enhance the defense mechanisms and protection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 34, 379-389.
- Austin, B. (2006). The Bacterial Microflora of Fish, Revised. *Scientific World Journal.* 6, 931–945.
- Austin, B.; Austin, D. A. (1989). *Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish.* Ellis Horwood, Chichester.
- Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (orgs.) (2010) *Espécies nativas para piscicultura no Brasil.* UFSM, Santa Maria, 608p.
- Boyd, C. E. (1990) *Water quality in ponds for aquaculture.* Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University. Alabama, Auburn.

- Buller, N.B. (2004) *Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual*. CABI Publishing.
- Bush, A. O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M.; Shostak, Aw. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* Revisited. *J. Parasitol.* 83 (4), 575-583.
- Carneiro, D. O. ; Figueiredo, H.CP.; Pereira Júnior, 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*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59 (4), 869-876.
- Chaudhury, A.; Nath, G.; Shukla, B. N.; Sanyal, S. C. (1996) Biochemical characterization, enteropathogenicity and antimicrobial resistance plasmids of clinical and environmental *Aeromonas* isolates. *J. Med. Microbiol.* 44 (6), 434-437.
- Cipriano, R. C; Bullock, G.L. (1984). *Aeromonas hydrophila and motile aeromonad septicemias of fish*. US Fish and Wildlife Service Division of Fishery Research, Washington, D.C.
- Costa, A.B.; Cyrino, J.E.P. (2006). Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*. 63 (3), 281-284.
- Facklam, R.R., Sahm, D.F., Teixeira, L.M. (1999). *Enterococcus*. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, F.C., Tenover, R.H. (eds.). *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, D.C., p.297-305.
- Franceschini, L.; Zago, A.C.; Schach, S.H.; Garcia, F.; Romera, D.M.; Silva, R.J. (2011). Parasitic infections in the production of pacu *Piaractus mesopotamicus* and hybrid patinga from the Northwest of São Paulo State, Brazil. VIII International Symposium of Fish Parasites, Viña Del Mar, Chile, p. 123.
- Garcia, F.; Moraes, F.R.; Martins, M.L. (2009). Challenge of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fed diets supplemented with vitamins C and E by *Aeromonas hydrophila* under different temperature. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61(2), 378-385.
- Genovez, L.W.; Pilarski, F.; Sakabe, R.; Marques, M.P.A.; Moraes, F.R. (2008). Controle biológico de *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Bol. Inst. Pesca.* 34 (1), 99 – 105.

- Holmström, K.; Gräslund, S.; Wahlström, A.; Pongshompoo, S.; Bengtsson, E.; Kautsky, N. (2003). Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. *Int. J. Food Sci. Tech.* 38, 255-266.
- Jeney, Z.; Jeney, G. (1995) Recent achievements in studies on diseases of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*. 129, 397-420.
- Kubtiza, F. (1999) *Qualidade da água na produção de peixes*. F. Kubtiza, Jundiaí.
- Kubtiza, F. (2000). *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. F. Kubtiza, Jundiaí.
- Lizama, M. de los 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. 2. *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Acta. Sci. Biol. Sci.* 29 (4), 437-445.
- Miranda, C.D.; Zemelman, R. (2001). Antibiotic resistant bacteria in fish from the Concepción Bay, Chile. *Mar. Pollut. Bull.* 42 (11), 1096-1102.
- Morita, M.; Matté, G.R.; Dropa, M., Azevedo, V.M.; Matté, M.H. (2006). Ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* sp. em pesqueiros e aspectos da doença para o homem e peixes. In: Esteves, K.E.; Sant'Anna, C.L. (orgs.). *Pesqueiros sob uma visão integrada de meio ambiente, saúde pública e manejo: um estudo na região metropolitana de São Paulo*. Rima, São Carlos. 240p.
- Ostrensky, A. Boeger, W. (1998). *Piscicultura: Fundamentos e técnicas de manejo*. Agropecuária Ltda., Guaíba.
- Pavanelli, G. C.; Eiras, J.C.; Takemoto, R. M. (2008). *Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. Eduem, Maringá.
- Petersen, A.; Dalsgaard, A. (2003). Antimicrobial resistance of intestinal *Aeromonas* spp. and *Enterococcus* spp. in fish cultured in integrated broiler-fish farms in Thailand. *Aquaculture*. 219,71-82.
- 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. *Braz. J. Biol.* 68 (2), 409-414.
- Post, G. (1987). *Fish health*. T. F. H. Publications.

- Rivera-Tapia, J.A. (2003). Antibiotic resistance, public health problem. *An. méd. Asoc. Méd. Hosp. ABC*. 48, 42-47.
- Rojas, N.E.T. (2006) Manejo da qualidade da água em viveiros de piscicultura continental. *In: Silva-Souza, A.T. (org.) Sanidade de organismos aquáticos no Brasil*. Abrapoa, Maringá, p.63-76.
- Silva-Souza, A. T.; Shibatta, O. A.; Matsumura-Tundisi, T.; Tundisi, J.G. Dupas, F.A. (2006). Parasitas de peixes como indicadores de estresse ambiental e eutrofização. *In: Tundisi, Matsumura-Tundisi; Galli (orgs.). Eutrofização na América do Sul: causas, conseqüências e tecnologias para gerenciamento e controle*. Instituto Internacional de Ecologia, São Carlos, p. 373-386.
- Urbinati, E.C.; Gonçalves, F.D.; Takahashi, L.S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). (2010). *In: Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (orgs.) Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. UFSM, Santa Maria, p. 205-244.
- Val, A.L.; Silva, M.N.P; Val, V.M.F.A. (2004). Estresse em peixes – ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. *In: Ranzani-Paiva, M.J.T.; Takemoto, R.M.; Lizama, M.A.P (ogs.). Sanidade de organismos aquáticos*. Livraria Varela, São Paulo, p.75-88.