

Eduardo Luiz Tavares Gonçalves

**ICTIOPATOLOGIA MARINHA NO BRASIL:
um estudo prospectivo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, da Universidade Federal de Santa Catarina, para a obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

Orientadora: Mônica Yumi Tsuzuki

Coorientador: Maurício Laterça Martins

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Gonçalves, Eduardo Luiz Tavares
ICTIOPATOLOGIA MARINHA NO BRASIL: um estudo
prospectivo / Eduardo Luiz Tavares Gonçalves;
orientador, Mônica Yumi Tsuzuki, coorientador,
Maurício Laterça Martins, 2017.
115 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Aquicultura. 3. Peixes
ornamentais. 4. Piscicultura marinha. 5. Sanidade
Aqüícola. I. Tsuzuki, Mônica Yumi. II. Martins,
Maurício Laterça. III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.
IV. Título.

Ictiopatologia marinha no Brasil: um estudo prospectivo

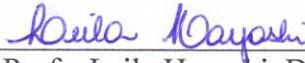
Por

EDUARDO LUIZ TAVARES GONÇALVES

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de

DOUTOR EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura.



Prof. Leila Hayashi, Dra.

Coordenadora do PPG em Aquicultura

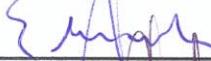
Banca Examinadora:



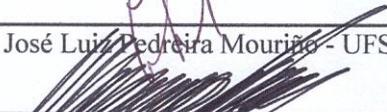
Dra. Mônica Yumi Tsuzuki – *Orientadora*



Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez - UFSC

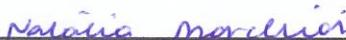


Dr. Eduardo Carginin Ferreira - IFC



Dr. José Luiz Pedreira Mourão - UFSC

Dr. Mauricio Lehmann - IFC



Dra. Natalia da Costa Marchiori - EPAGRI

Dedico este trabalho à minha família e a todos aqueles com quem eu realmente posso contar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, José Pedro e Celina Maria, que sempre orientaram e apoiaram o meu crescimento pessoal e profissional;

Aos meus orientadores Prof.^a Dr.^a Mônica Yumi Tsuzuki e Prof. Dr. Maurício Laterça Martins, pelo apoio dado apesar da distância;

Aos meus amigos do laboratório AQUOS: Aline Brum, Ágata Passeto, Daniela Bambi, Gabriel Jesus, Gabriela Hashimoto, Gabriela Tomas Jerônimo, Geovana Dotta, Gustavo Melchert, Jaqueline de Andrade, Jennifer Schulze, Jessica Melo, Jerko Ledic, Jorge Pedro, José Victor, Karen Tancredo, Lucas Cardoso, Katina Roumbedakis, Maitê Florindo, Marco, Maria Luiza Ruiz, Michele Cristine, Monyele Acchile, Natália Marchiori, Patrícia Garcia, Paula Brando, Samantha Fontanella, William Furtado, e tantos outros que passaram por este agradável ambiente de trabalho;

Aos meus amigos pessoais, que sempre estão presentes não importando a distância: Alfredo dos Santos Weber, Breno Batista Liberato Souza, João Luís Chainça Neto, Heitor Fabrício Klaus, Maíra Matos, Nathasha Karla Pimenta Said e Ynaiã Silva Benthroldo;

Por fim agradeço a todos que me apoiaram durante este período.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos;

Durchaus studirt, mit heißem Bemühn.
Da steh' ich nun, ich armer Tor!
Und bin so klug als wie zuvor.

(Goethe, 1808)

RESUMO

No Brasil, a ictiopatologia marinha é ainda incipiente, de forma que o próprio desconhecimento sobre a fauna parasitária e sobre quais as principais enfermidades que afetam espécies marinhas de interesse comercial, constitui um importante entrave para o desenvolvimento da piscicultura marinha. Ademais, pouco é conhecido acerca dos parâmetros hematológicos e da fauna parasitária dos peixes marinhos já cultivados no Brasil. Assim, estudos que auxiliem no desenvolvimento de programas sanitários específicos são extremamente relevantes. Este estudo apresenta dados sobre três espécies de peixes marinhos de interesse comercial: *Rachycentron canadum*, que representa a principal aposta da piscicultura marinha de corte no Brasil; *Anisotremus virginicus*, uma espécie com importante papel ecológico e que apresenta potencial como espécie ornamental; e *Gramma brasiliensis*, uma importante espécie ornamental marinha, cujos estoques naturais sofrem pressão devido à captura de animais selvagens para o mercado de aquarismo. Como principais contribuições desta tese destacam-se a apresentação de *A. virginicus* como espécie com potencial para monitoramento de ecossistemas marinhos utilizando parasitos como bioindicadores e a identificação da bactéria *Photobacterium damsela* como um importante agente etiológico de *R. canadum* cultivado na região Sudeste. Os dados evidenciaram a relevância da fotobacteriose no Brasil, tendo em vista o potencial zoonótico, e são discutidas estratégias de controle deste patógeno.

Palavras-chave: Aquicultura. Piscicultura Marinha. Peixes Ornamentais. Bijupirá. Sanidade aquícola.

ABSTRACT

Marine ichthyopathology is still incipient in Brazil and as a consequence, there is a lack of knowledge about the parasitic fauna and about the major diseases affecting marine species of commercial interest, constituting an important obstacle for the development of marine fish culture. Therefore, studies that help in the development of specific sanitary programs are extremely relevant. Furthermore, little is known about the hematological parameters and parasitic fauna of marine fish already farmed in Brazil. This study presents data of three marine fish species of commercial interest: *Rachycentron canadum*, which represents the most promising species for marine culture in Brazil; *Anisotremus virginicus*, a species with an important ecological role and with cultivation potential both as ornamental fish and target for monitoring of marine aquatic environments; and *Gramma brasiliensis*, an important ornamental marine fish, whose natural stocks are threatened due to pressure of capture of wild animals for the aquarium trade. The main contributions of this thesis are the presentation of *A. virginicus* as a potential species for marine ecosystems monitoring using parasites as bioindicators and the identification of *Photobacterium damsela* as an important etiological agent of *R. canadum* cultured on the southeast region of Brazil. Data show the relevance of photobacteriosis in Brazil, considering its zoonotic potential, and control strategies for this pathogen are discussed.

Keywords: Aquaculture. Marine Fish Culture. Ornamental Fish. Cobia. Fish Health.

SUMÁRIO

APROXIMAÇÃO COM O TEMA DE ESTUDO	17
PARASITISMO E SUAS RELAÇÕES	17
PISCICULTURA MARINHA.....	20
<i>Importância da sanidade na piscicultura marinha</i>	22
PISCICULTURA ORNAMENTAL	23
OBJETIVOS	24
<i>Objetivos específicos</i>	24
JUSTIFICATIVA	24
PERCURSO METODOLÓGICO	25
ESPÉCIES FOCO	26
<i>Rachycentron canadum</i>	26
<i>Anisotremus virginicus</i>	27
<i>Gramma brasiliensis</i>	28
PROCEDIMENTOS DE COLETA.....	29
<i>Coleta e processamento de patógenos</i>	29
<i>Análises Parasitológicas</i>	30
<i>Análises hematológicas</i>	31
<i>Análises microbiológicas</i>	31
CAPÍTULO 1	33
DETECÇÃO, CONTROLE E PREVENÇÃO DE FOTOBACTERIOSE EM CULTIVO DE BIJUPIRÁ.....	33
INTRODUÇÃO	35
CARACTERIZAÇÃO DO PATÓGENO.....	37
<i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i>	37
<i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>damsela</i>	38
<i>Importância da P. damsela</i> no mundo	39
<i>Fotobacteriose no Brasil</i>	40
<i>Estratégias de detecção, controle e prevenção</i>	41
CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO 2	53
DETECÇÃO DE FOTOBACTERIOSE EM RACHYCENTRON CANADUM CULTIVADOS NA REGIÃO SUDESTE.....	53
REFERÊNCIAS	60

CAPÍTULO 3	63
INTENSA INFESTAÇÃO PARASITÁRIA NO PEIXE ORNAMENTAL MARINHO <i>ANISOTREMUS VIRGINICUS</i>	63
INTRODUÇÃO.....	66
MATERIAL E MÉTODOS	67
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
CONCLUSÃO.....	72
AGRADECIMENTOS.....	72
REFERÊNCIAS	72
CAPÍTULO 4	75
CAUSAS DE MORTALIDADE DE <i>GRAMMA BRASILIENSIS</i> SELVAGENS DURANTE A FORMAÇÃO DE CASAIS EM CATIVEIRO	75
CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	91
APÊNDICE A – REVISÃO <i>RACHYCENTRON CANADUM</i>	99
PRINCIPAIS PARASIToses EM BIJUPIRÁ, <i>RACHYCENTRON CANADUM</i>	99

APROXIMAÇÃO COM O TEMA DE ESTUDO

PARASITISMO E SUAS RELAÇÕES

Existem diversas definições sobre o que é parasitismo, porém, uma das mais comumente aceitas afirma que é uma associação entre organismos de espécies distintas na qual se observa, além de associação íntima e duradoura, uma dependência metabólica de grau variado. Entretanto, ele é muito mais do que isso; é um dos modos de vida mais bem-sucedidos entre os organismos vivos.

Levando-se em consideração uma definição ampla de parasitismo: aproximadamente 50% de todas as espécies animais conhecidas encaixam nesta categoria e, mesmo quando se considera definições restritivas, o número de parasitas ainda é enorme, pois praticamente todo metazoário de vida livre abriga pelo menos uma espécie parasita (POULIN, 2000).

Uma vez que vivem em uma íntima relação de dependência com seus hospedeiros, os parasitos desenvolvem uma série de adaptações para assegurar sua permanência no hospedeiro, entre as quais figuram os mecanismos de evasão do sistema imune e os mecanismos de reconhecimento de hospedeiro. Na via contrária, os hospedeiros também se adaptam para resistir ao parasito e reduzir os danos causados por eles. A este processo denomina-se coevolução, de grande importância na relação parasito-hospedeiro, especialmente para as espécies de parasitos com elevada especificidade.

Porém, essa relação entre parasito e hospedeiro é influenciada não só pelo grau de coevolução e de adaptações, mas também por diversos outros fatores, tanto de origem intrínseca aos organismos (como idade e nutrição), quanto de origem extrínseca ou ambiental (como temperatura e salinidade). Portanto, essa relação pode ser esquematizada, de uma forma ampla, como na Figura A.

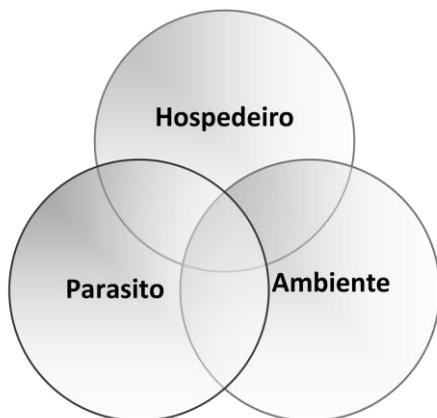


Figura A: Diagrama de Venn com relação hospedeiro-parasita-ambiente.

O parasitismo ocorre frequentemente na natureza onde os animais, em geral, apresentam uma grande variedade de parasitos sem, porém, que estes lhes causem danos significativos. Isto acontece devido à existência de um equilíbrio, entre o estado nutricional e fisiológico do animal e o meio ambiente em que está inserido, que impede a manifestação de doenças (ANDRADE *et al.*, 2001, MORAES & MARTINS, 2004; ROBERTS, 2012).

A manifestação de doenças ou de sintomas parasitários depende da interação entre os três conjuntos apresentados anteriormente (parasita, hospedeiro e ambiente). Os parasitos necessitam dos hospedeiros para sua sobrevivência. Em condições normais, num ambiente equilibrado, o número de parasitos por hospedeiro é baixo e o dano causado é mínimo. Entretanto, quando ocorre um desequilíbrio na condição de homeostasia (tanto do ambiente quanto do hospedeiro), que favoreça a proliferação e a infestação parasitária, verifica-se uma elevação drástica da intensidade de parasitos por hospedeiro, aumentando substancialmente o dano sofrido pelos hospedeiros. Além disso, elevadas intensidades parasitárias, aliadas às condições ambientais inadequadas, podem causar eventos de mortalidade em massa.

De forma geral, pode-se classificar o processo de doença no hospedeiro conforme a Figura B (GUIDO, 2011):

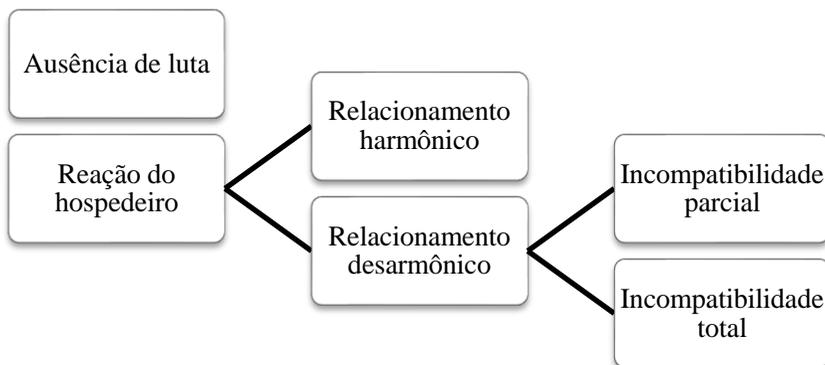


Figura B: Representação esquemática do processo de doença parasitária no hospedeiro.

- **Ausência de luta:** quando ocorre resistência ou insusceptibilidade do hospedeiro ao parasita.
- **Reação do hospedeiro:** quando existe uma luta entre o hospedeiro e o parasito, que, por sua vez, pode tomar dois caminhos:
 - **Relacionamento harmônico:** O parasita se instala e se multiplica sem causar danos graves ao hospedeiro – não ocorre sintomatologia.
 - **Relacionamento desarmônico:** O parasita instala-se e multiplica-se no hospedeiro provocando alterações orgânicas e funcionais capazes de interferir na homeostasia. Neste caso a reação do hospedeiro pode ter dois desfechos:
 - **Incompatibilidade total:** Morte do hospedeiro ou do parasita, sendo que, normalmente, a morte do hospedeiro leva à morte do parasita. Quando ocorre a vitória do hospedeiro, na maioria dos casos, não ocorre o desenvolvimento da imunidade ativa.
 - **Incompatibilidade parcial:** O hospedeiro é incapaz de destruir o parasito, de forma que este persiste em seu organismo, sempre em relacionamento desarmônico. O hospedeiro pode desenvolver imunidade contra infecções posteriores do mesmo agente.

PARASITOLOGIA E AQUICULTURA

A aquicultura é uma atividade em franca expansão no mundo todo. Enquanto a produção pesqueira global mantém-se estática, a produção aquícola tem apresentando crescimento médio de 6% ao ano (FAO, 2010). Esse crescimento, porém, nem sempre é ordenado, e a constante busca por produtividade leva à intensificação descontrolada dos cultivos.

Em cultivos intensivos, os animais estão constantemente expostos a diversos fatores causadores de estresse, tais como: alta densidade de estocagem, baixa qualidade de água, alterações bruscas de temperatura, diminuição no teor de oxigênio dissolvido, manejo inadequado e alimentação deficiente em nutrientes, entre outros. (THATCHER & BRITES-NETO, 1994; MARTINS, 1998).

Essa exposição crônica a fatores de estresse acarreta um constante desequilíbrio homeostático, que favorece a proliferação de patógenos, especialmente em locais com altas densidades de estocagem, tornando os animais mais suscetíveis às doenças (CECCARELLI et al., 1990; MARTINS & ROMERO, 1996).

Animais doentes têm seu crescimento retardado, são menos atraentes ao consumidor e podem até ter sua comercialização proibida, causando prejuízos econômicos aos produtores (BARKER et al., 2002; RANZANI-PAIVA & SILVA-SOUZA, 2004). Além disso, ambientes com baixa qualidade de água tornam os animais muito mais vulneráveis, de modo que mesmo baixas infestações parasitárias podem ser letais (MOLNÁR, 1994), culminando em mortalidades massivas, que também causam significativos prejuízos econômicos (SNIESZKO, 1974; CECCARELLI et al., 1990; KLESZIUS & ROGERS, 1995; MORAES & MARTINS, 2004).

Faz-se necessário, portanto, um forte trabalho de acompanhamento e manejo sanitário em cultivos, como forma de prevenir o surgimento de doenças e evitar potenciais prejuízos. Neste contexto, a parasitologia - ciência que estuda os parasitos, seus hospedeiros e as relações entre eles - é de extrema importância para assegurar um acompanhamento sanitário adequado.

PISCICULTURA MARINHA

De acordo com Ward e Myers (2005), nos últimos 50 anos a atividade pesqueira em alta escala nos oceanos tem interferido nos ecossistemas marinhos, gerando grandes alterações ecológicas e reduzindo drasticamente vários estoques de peixes. Por causa disso, é evidente a necessidade de alternativas econômicas ambientalmente sustentáveis que visem reduzir a pressão extrativista sobre os estoques pesqueiros que, de acordo com Camargo & Poeyu (2005), chegou ao seu limite máximo sustentável em 1995, com um total de 100 milhões de toneladas ao ano.

Como alternativa à pesca extrativista, tem-se a aquicultura que propicia a preservação os estoques naturais de peixes e representa uma alternativa eficiente para a redução do déficit entre a demanda e a oferta de pescado no mercado (CAVALLI & FERREIRA, 2010). Além disso, a implantação dessa atividade gera emprego e renda, resultando na elevação da produtividade das áreas costeiras e diminuindo a pressão extrativista sobre os recursos explorados (SANCHES et al., 2008).

O Brasil apresenta grande potencial para a piscicultura marinha (BRANDINI et al., 2000), tanto pelas suas excelentes condições naturais (clima e recursos hídricos), que propiciam uma vasta diversidade de ecossistemas costeiros, como, também, por abrigar diversas espécies com grande capacidade para a atividade de cultivo.

Apesar deste enorme potencial, o cultivo de peixes marinhos em escala comercial tem contribuído com uma porção pouco significativa na produção de pescado no País. De acordo com o Estado Mundial da Pesca e Aquicultura 2016 (FAO, 2016), o Brasil ainda não possui dados estatísticos sobre a produção de peixes marinhos, a despeito de pontuais tentativas de criação em escala comercial e das diversas espécies com potencial de cultivo que vem sendo alvo de pesquisas.

O Instituto de Pesca de São Paulo (região Sul/Sudeste) ao longo dos anos vem desenvolvendo trabalhos com espécies de peixes marinhos como a garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* Lowe, 1834 e tainha *Mugil platanus* Gunther, 1880. No Estado de Santa Catarina, estão sendo desenvolvidos estudos na produção de alevinos de robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860 e *Centropomus undecimalis* Bloch, 1792. Mais ao sul do país, no estado do Rio Grande do Sul, são várias as espécies em estudo, como o linguado *Paralichthys orbignyanus* Valenciennes, 1839, a corvina *Micropogonias furnieri* Desmarest, 1823, o pampo *Trachinotus marginatus* Cuvier, 1832 e o peixe-rei *Odontesthes argentinensis* Valenciennes, 1835.

Entretanto, a grande aposta da piscicultura marinha brasileira vem sendo a espécie *Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766, conhecida como bijupirá ou cação de escamas. Encontrada naturalmente em todo o litoral brasileiro, ela despertou o interesse da piscicultura marinha no País por apresentar uma excepcional taxa de crescimento, carne saborosa e de ótimo valor nutricional (CHANG, 2003).

Tendo iniciado em 2005/2006, o cultivo de bijupirá constitui uma das primeiras tentativas de produção comercial de peixes marinhos no Brasil. A tecnologia produtiva foi trazida principalmente da Ásia e EUA, e adaptada às condições locais. Atualmente, o bijupirá vem sendo produzido principalmente na região Sudeste em sistemas de engorda em tanques-rede de pequeno tamanho próximos à costa, podendo atingir até 4,2 kg (SAMPAIO et al., 2011). Entretanto, a ocorrência de doenças e parasitas vem afetando de forma significativa a produção e qualidade deste peixe em cativeiro na região (KERBER et al., 2011; GUERRA-SANTOS et al., 2012; SILVA et al., 2012; CALIXTO et al., 2017).

Outro potencial da piscicultura marinha que merece destaque é a aquicultura ornamental. Ela apresenta-se como uma alternativa de diversificação da aquicultura tradicional, pois além de se caracterizar como um setor de baixo impacto ambiental, lida com peixes valorizados no mercado da aquarofilia. Nota-se um crescente interesse pela produção de peixes ornamentais marinhos por não necessitar de grandes espaços físicos e alto investimento inicial.

Importância da sanidade na piscicultura marinha

O sucesso de qualquer criação, no entanto, é dependente de uma série de fatores que estão intimamente ligados com o bem-estar do peixe. Devido ao seu íntimo contato com o ambiente aquático, complexo e dinâmico, e à sua condição ectotérmica, os peixes estão sob desafios constantes, que vão desde variações nos parâmetros físico-químicos da água a práticas de manejo, transporte e estocagem (LIMA *et al.*, 2006). Todos esses desafios geram estresse, que pode ter como consequência a diminuição da resistência dos peixes ou doenças infecciosas e parasitárias.

Algumas associações parasitárias podem ser ampliadas em condições de cultivo intensivo e, dessa forma, serem extremamente prejudiciais aos seus hospedeiros, por isso não devem ser desprezadas (THATCHER, 1981). Para Valenti *et al.* (2000), um dos problemas mais sérios para uma piscicultura intensiva decorrente de algumas associações parasitárias é a diminuição do valor comercial dos animais, seja devido à

menores taxas de conversão ou à algum aspecto organoléptico indesejado. Altas densidades populacionais, condições ambientais adversas e sistemas de cultivo inadequadamente projetados causam, frequentemente, estresse crônico. Caso não haja um acompanhamento sanitário adequado, esse estresse pode refletir em mortalidade e significativos prejuízos econômicos. (CECCARELLI *et al.*, 1990; MARTINS *et al.*, 2002; MOLNÁR, 1994; MORAES & MARTINS, 2004)

Na criação de peixes marinhos, a erradicação de enfermidades por meio de produtos químicos ou vacinas pode ser muito difícil (ROHDE, 2005), tanto pela dificuldade de aplicação do tratamento quanto pelas complexas interações com o ambiente aquático. Ademais, Buchmann (1990) alerta para o risco do desenvolvimento de resistência dos parasitos às drogas. Dessa forma, é necessário aprender a lidar com a sanidade aquícola de forma precoce e preventiva, impedido a entrada de organismos patogênicos sempre que possível e evitando sua proliferação entre cultivos.

PISCICULTURA ORNAMENTAL

A piscicultura ornamental é uma atividade que movimenta bilhões de dólares anualmente (MEYERS, 2001) e que, segundo a FAO (2005), há duas décadas apresenta um crescimento médio constantemente superior a 10% ao ano.

No Brasil, a produção piscícola ornamental teve um grande salto na década de 1970 (VIDAL, 2002), especialmente nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. Desde então, o mercado de peixes ornamentais é considerado um dos setores mais lucrativos da piscicultura brasileira, chegando a movimentar valores próximos a 1 bilhão de reais ao ano (VIDAL, 2014).

Apesar da grande relevância comercial o setor ainda não obteve a devida atenção por parte dos órgãos públicos nacionais. Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA (2008), existiam apenas 230 pisciculturas ornamentais em todo território nacional, ao passo que de acordo com levantamento feito por Vidal (2002) anos antes, o Brasil já contava com mais de 1800 produtores ornamentais.

Essa carência de dados oficiais é ainda mais evidente no que tange a produção de peixes ornamentais marinhos, que segue ausente nas estatísticas oficiais, apesar dos altos valores individuais que muitas espécies atingem no mercado nacional e internacional.

Aliada à ausência de informações sobre o setor produtivo de peixes ornamentais há, também, pouco conhecimento sobre aspectos sanitários associados às condições de cativeiro.

OBJETIVOS

Desenvolver estudos ictiopatológicos prospectivos, com pelo menos três espécies de peixes marinhos de interesse comercial, de modo a fornecer dados que subsidiarão o desenvolvimento e a implantação de estratégias para controle sanitário aplicadas à piscicultura marinha no Brasil.

Objetivos específicos

- Identificar e estudar os principais agentes etiológicos em pelo menos três espécies marinhas cultivadas ou com potencial de cultivo;
- Estabelecer índices parasitológicos e hematológicos;
- Determinar condições associadas à manifestação de doenças por meio de anamnese;

JUSTIFICATIVA

No Brasil, estudos na área da ictiopatologia marinha ainda são incipientes, resultando em uma carência de dados que possam subsidiar estratégias de controle e prevenção de enfermidades, o que constitui um forte entrave para o desenvolvimento do cultivo de diversas espécies de interesse comercial. Portanto, estudos que auxiliem no desenvolvimento de programas sanitários específicos são extremamente relevantes.

Ademais, pouco é conhecido acerca dos parâmetros hematológicos e da fauna parasitária dos peixes marinhos cultivados no Brasil, cumprindo esta pesquisa o importante papel de produzir conhecimento que acrescentará a base necessária para o avanço da ictiopatologia marinha brasileira.

PERCURSO METODOLÓGICO

O percurso que levou ao desenvolvimento deste estudo teve início em 2012 quando fui contemplado com uma Bolsa de Doutorado Pleno pelo CNPq, dando início a um projeto de estudo de espécies marinhas de peixes na Universidade do Porto em Portugal.

Durante o período de 12 meses em Portugal pude analisar 143 peixes, destes 65 da espécie *Scophthalmus maximus* e 78 da espécie *Argyrosomus regius*. Entretanto, em virtude da crise pela qual Portugal passava naquele momento, com carência de materiais para o desenvolvimento de pesquisas em laboratório, optei em interromper o doutorado e o desenvolvimento do projeto naquela instituição.

Em 2014 retomei o doutorado no programa de pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina e ao longo do percurso do doutorado tive a oportunidade de trabalhar com 8 espécies de peixes marinhos (*Amphiprion clarkii*, *Anisotremus virginicus*, *Centropomus parallelus*, *Chaetodon striatus*, *Elacatinus Fígaro*, *Gramma brasiliensis*, *Rachycentron canadum*, *Sardinella brasiliensis*), contribuindo com dois trabalhos de conclusão de curso, sete resumos em congressos, um capítulo de livro e quatro artigos em revistas científicas.

Porém, dentre as diversas espécies analisadas nesse primeiro momento, optei em delimitar três espécies foco, tendo em consideração a relevância dos dados e o potencial das espécies para aquicultura, sendo elas: *Rachycentron canadum*, *Anisotremus virginicus*, *Gramma brasiliensis*.

ESPÉCIES FOCO

Rachycentron canadum

Classificação taxonômica

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Subfilo	Vertebrata
Superclasse	Osteichthyes
Classe	Actinopterygii
Subclasse	Neopterygii
Infraclasse	Teleostei
Superordem	Acanthopterygii
Ordem	Perciformes
Subordem	Percoidei
Família	Rachycentridae
Gênero	<i>Rachycentron</i> Kaup, 1826
Espécie	<i>Rachycentron canadum</i> (Linnaeus, 1766)

O bijupirá, também conhecido como cobia, é uma espécie epipelágica, eurialina e euritérmica (SHAFFER & NAKAMURA, 1989; RESLEY et al., 2006), que apresenta comportamento migratório e ampla distribuição geográfica. É um peixe ativo, sem bexiga natatória (RESLEY et al., 2006), de hábito solitário (VAN DER VELDE et al., 2009), formando agregados populacionais apenas durante o período de desova. Possui hábito alimentar carnívoro, alimentando-se de peixes bentônicos, crustáceos e lulas, e pode atingir mais de 2 m de comprimento e até 60 kg (ARENDDT et al., 2001; HOLT et al., 2007).

As primeiras tentativas de cultivo desta espécie começaram em Taiwan no início da década de 1990 e foram bem-sucedidas. O rápido crescimento apresentado pela espécie, podendo alcançar de 6 a 8 kg em um ano de cativeiro, estimulou o desenvolvimento da produção comercial e de tecnologias para a produção intensiva de juvenis (LIAO et al., 2004).

A espécie apresenta outras características favoráveis à aquicultura, incluindo: reprodução em cativeiro (SOUZA-FILHO & TOSTA, 2008); aceitação de dietas extrusadas (CRAIG et al., 2006); carne de excelente qualidade (LIAO & LEAÑO, 2007), e resposta positiva à vacinação (LIN et al., 2006). Tais vantagens, aliadas à facilidade na produção de formas jovens têm estimulado muitos produtores a iniciar seu cultivo no Brasil.

Durante o transcurso do doutorado foi realizada uma revisão aprofundada sobre as principais parasitoses em *R. canadum* que foi

submetida como capítulo do livro “Aquicultura do beijupirá (*Rachycentron canadum*) no Brasil” e pode ser encontrada no apêndice A desta tese.

Anisotremus virginicus

Classificação taxonômica

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Subfilo	Vertebrata
Superclasse	Osteichthyes
Classe	Actinopterygii
Subclasse	Neopterygii
Infraclasse	Teleostei
Superordem	Acanthopterygii
Ordem	Perciformes
Subordem	Percoidei
Família	Haemulidae
Gênero	<i>Anisotremus</i> Gill, 1861
Espécie	<i>Anisotremus virginicus</i> (Linnaeus, 1758)

Anisotremus virginicus (Linnaeus, 1758), conhecido como salema ou roncadador listrado, é um representante da família Haemulidae (Actinopterygii: Perciformes), que por sua vez engloba diversas espécies com importantes papéis ecológicos.

Sua distribuição geográfica estende-se por toda a costa brasileira e Caribe, chegando até a Flórida e porções do Golfo do México (SMITH 1997; RAY, ROBINS, 2016). Tipicamente habita recifes de corais e é uma importante espécie no mercado ornamental marinho, sendo frequentemente encontrada em aquários públicos devido à sua distinta aparência listrada e seu comportamento de cardume.

É um peixe significativamente explotado na Flórida (BRUCKNER, 2004) e, apesar de apresentar vulnerabilidade moderada (CHEUNG, PITCHER, PAULY, 2005), a contínua perda dos manguezais ao redor do mundo pode impactar significativamente a biomassa desta espécie (MUMBY, 2004). Além disso, no mercado de peixes ornamentais, a comercialização da salema é feita na fase de juvenil, tanto devido à sua coloração diferenciada quanto em função de ser comportamento como espécie limpadora (SAZIMA et al., 2010), o que coloca ainda mais pressão na manutenção dos estoques naturais devido à retirada de animais que ainda não atingiram a maturidade sexual.

Gramma brasiliensis

Classificação taxonômica

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Subfilo	Vertebrata
Superclasse	Osteichthyes
Classe	Actinopterygii
Subclasse	Neopterygii
Infraclasse	Teleostei
Superordem	Acanthopterygii
Ordem	Perciformes
Subordem	Percoidi
Família	Grammatidae
Gênero	<i>Gramma</i> Poey, 1868
Espécie	<i>Gramma brasiliensis</i> (Sazima, Gasparini and Moura, 1998)

Gramma brasiliensis é uma espécie bastante apreciada na aquariorfilia (MONTEIRO-NETO et al., 2003) devido à sua coloração marcante, sendo bastante similar ao *Gramma loreto*, espécie já consolidada no mercado mundial de aquariorfilia (LANGO-REYNOSO et al., 2012) e cuja produção em cativeiro é bem sucedida (GOPAKUMAR, 2006; LEIS et al., 2012).

Assim como seu congênere *G. loreto*, *G. brasiliensis* costuma ser encontrado em ambientes costeiros, podendo apresentar comportamento solitário ou viver em pequenos grupos. Habitam pequenas cavernas ou bordas rochosas, frequentemente nadando de cabeça para baixo em relação ao teto (SAZIMA et al., 1998). Possui hábito carnívoro, se alimentado de organismos planctônicos e ocasionalmente pode ser observado exibindo comportamento de limpeza com outras espécies de peixes.

PROCEDIMENTOS DE COLETA

Foram coletados e observados exemplares de diferentes espécies marinhas provenientes tanto de unidades experimentais e como de produções comerciais. Buscou-se coletar os animais na Primavera/Verão e no Outono/Inverno, de forma que agentes patogênicos que apresentassem uma sazonalidade marcada, bem como os períodos do ano onde os níveis de infestação/infecção fossem mais elevados, pudessem ser detectados.

Em todos os exemplares foi dada especial importância ao exame efetuado nas brânquias, tegumento, estômago e intestino, por serem estes os órgãos que atuam como primeira barreira à entrada de agentes patogênicos e onde ocorrem os parasitas. Com maior frequência, vários grupos de protistas (dinoflagelados, ciliados, amebas, apicomplexa), monogenéticos e crustáceos parasitas, causam problemas de mortalidade e morbidade em peixes de cultura.

A pesquisa e o processamento dos agentes patogênicos detectados foram realizados de acordo com a metodologia baseada em trabalhos de referência sobre a matéria (SARAIVA, 1986; LOM; DYKOVA, 1992; EIRAS et al., 2006; PLUMB et al, 2010; ROBERTS, 2012).

Coleta e processamento de patógenos

Todos os hospedeiros foram medidos (comprimento total e comprimento padrão), fotografados e pesados. Para cada hospedeiro examinado foi calculado o fator de condição de acordo com Le Cren (1951). Sempre que possível foi determinado o sexo do animal e foram pesados fígado e gônadas para determinação dos índices hepatossomático e gonadossomático, respectivamente.

Os animais foram anestesiados com eugenol (óleo de cravo) na concentração de 75 mg/L e passaram por avaliação biométrica para, posteriormente, serem eutanasiados por aprofundamento do estado anestésico na concentração de 300 mg/L.

Sempre que o tamanho do animal permitiu, foi coletado sangue por punção caudal para posterior estudo hematológico. Também foi realizada raspagem do muco da superfície do corpo e o prensado entre lâmina-lâminula de um fragmento das brânquias.

O interior dos animais foi observado para identificar sinais de alterações em órgãos internos.

As brânquias e demais órgãos extraídos foram fixados em formalina 5% e/ou álcool 70% em um volume fixo, de acordo o protocolo desenvolvido por Eiras et al. (2006).

Cada grupo de parasito observado foi coletado e processado de acordo com os seguintes protocolos específicos para cada grupo taxonômico:

- **Tricodínídeos e outros protistas:** Preparações extemporâneas secas à temperatura ambiente, fixadas com álcool metílico, secas novamente e corado com Giemsa 1:9 por 10 minutos (ARTHUR; LOM, 1984). No caso de tricodínídeos preparações impregnadas com nitrato de prata e reveladas pelo método de Klein (LOM, 1958) e caracterização morfométrica seguindo as recomendações de Lom (1958) e Van As e Basson (1989).

- **Mixosporídeos:** Preparações semipermanentes utilizando como meio de montagem a glicerina gelatina com o objetivo de realizar a caracterização morfométrica dos esporos destes parasitas. Coleta de material para ser preservado em álcool absoluto, possibilitando, caso seja necessário, a caracterização molecular destes parasitas.

- **Monogenoidea:** Parasitas colocados numa gota de água entre lâmina e lamínula. Quando as partes esclerificadas se encontrarem bem posicionadas adiciona-se uma gota de picrato de amônia – glicerina.

- **Digenéticos e Cestóides:** Helmintos limpos em soro fisiológico, fixados em álcool a 70%, pós-fixados em líquido de Bouin e corados pela carmin-ferro-acético.

- **Nematodes e Acantocéfalos:** Parasitas limpos em soro fisiológico, fixados em álcool a 70%, clareados em glicerina ou lactofenol de Amann e observados em preparações extemporâneas.

- **Crustacea:** Parasitas fixados em álcool 70%, clarificados em ácido láctico a 90% e montados em líquido de Hoyer's.

Análises Parasitológicas

Os parasitas metazoários foram quantificados sob estereomicroscópio em placa de Petri marcada. A quantificação dos protistas foi realizada por meio de inferência estatística, a partir de amostras homogeneizadas quantificadas em câmaras de contagem com auxílio de microscópio ótico. Os parasitos foram identificados segundo Lom (1981), Thatcher (2006) e Kritsky et al. (1995). Os valores de prevalência, intensidade e abundância foram calculados de acordo com Bush et al. (1997).

Análises hematológicas

Após anestesia com eugenol (75 mg/L), o sangue foi coletado com seringa contendo EDTA 10% para confecção de duplicatas de extensões sanguíneas coradas com May Grünwald-Giemsa-Wright (TAVARES-DIAS; MORAES, 2003).

As extensões foram utilizadas para contagem diferencial de leucócitos e contagens totais de trombócitos e leucócitos pelo método indireto (ISHIKAWA et al. 2008). Alíquotas foram utilizadas para a determinação do hematócrito pelo método do microhematócrito (GOLDENFARB et al., 1971), para contagem de eritrócitos utilizando a diluição de 1:200 em solução de formol-citrato. Para a determinação dos valores de glicose foi utilizado glicosímetro comercial.

Análises microbiológicas

Na existência de sinais clínicos indicativos de bacterioses, os animais foram submetidos à coleta asséptica de fragmentos de órgãos internos, que foram semeados em caldo BHI e conservados para posterior exame microbiológico no Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). A metodologia utilizada para o isolamento e identificação de amostras positivas teve como base as técnicas descritas por Austin e Austin (2007) e Buller (2004).

Amostras das bactérias obtidas no meio de cultura foram congeladas e foram submetidas a processo de extração de DNA com auxílio do Ultra Clean Microbial DNA Isolation Kit da marca Mobio. O DNA extraído foi enviado para o Department of Microbiology da Oregon State University, onde foi identificado através de PCR de acordo com Osorio et al (2000).

Análise dos dados

Os dados resultantes foram analisados por meio de estatística exploratória. A decisão da aplicação de diferentes testes estatísticos foi feita conforme pertinência e todas as análises foram realizadas com auxílio do software STATISTICA (StatSoft).

CAPÍTULO 1

Deteccção, controle e prevenção de fotobacteriose em cultivo de bijupirá

Eduardo Luiz Tavares Gonçalves ⁽¹⁾; Eduardo Gomes Sanches ⁽²⁾;
Maurício Laterça Martins ⁽¹⁾ e Mônica Yumi Tsuzuki ⁽³⁾

⁽¹⁾ Laboratório AQUOS - Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Admar Gonzaga 1346, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil. - eltgoncalves@gmail.com, mlaterca@cca.ufsc.br

⁽²⁾ Pesquisador Científico do Instituto de Pesca, Estrada Professor Joaquim Lauro Monte Claro 2.275, Praia do Itaguá, Ubatuba, SP, Brasil - esanches@pesca.sp.gov.br

⁽³⁾ Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Servidão dos Coroas S/N, Barra da Lagoa, Florianópolis, SC, Brasil. - monica.tsuzuki@ufsc.br

Resumo: *Photobacterium damsela* é considerado um dos principais patógenos de peixes marinhos cultivados, tendo sido responsável por importantes prejuízos econômicos em diversos países. No Brasil, esta bactéria não vem recebendo a devida importância, apesar de já ter sido detectada afetando cultivos de *Rachycentron canadum*. Este trabalho visa apresentar uma revisão sobre o patógeno, que, juntamente com outros fatores, pode estar sendo responsável pela estagnação no crescimento da produção nacional de *R. canadum*. Também são apresentadas algumas estratégias de detecção, controle e prevenção do patógeno.

Termos para indexação: Piscicultura marinha, Sanidade animal, Zoonose, Aquicultura, *Rachycentron canadum*

Abstract: *Photobacterium damsela* is considered one of the most important pathogens in marine fish culture, being responsible for major economical impacts in a variety of countries. In Brazil, this bacteria isn't getting proper attention, even though it has been detected in cultured *Rachycentron canadum*. This paper aims to present a review on the pathogen, which, along with other factors, might be responsible for the stagnation in the development of national *R. canadum* culture. Strategies for detection, control and prevention of this pathogen are also presented.

Index terms: Marine fish culture, Animal health, Zoonosis, Aquaculture, *Rachycentron canadum*

INTRODUÇÃO

A piscicultura marinha vem atravessando um período de crescimento nos últimos anos (CAVALLI & HAMILTON, 2009). A dificuldade da obtenção de formas jovens, que era o principal gargalo para a atividade no Brasil, vem sendo solucionada com a adoção de novas tecnologias (SANCHES et al., 2013a). Diversas espécies de peixes marinhos nativos, de elevado valor econômico, tiveram seus protocolos de reprodução e/ou de larvicultura estabelecidos, tais como o robalo-peva (*Centropomus parallelus*) (ALVAREZ-LAJONCHÈRE & TSUZUKI, 2008), a garoupa-verdadeira (*Epinephelus marginatus*) (SANCHES et al., 2009), o ariocó (*Lutjanus synagris*) (SANCHES & CERQUEIRA, 2010) e a cioba (*Lutjanus analis*) (SANCHES et al., 2013b). Porém, o peixe marinho que vem despertando maior interesse para o cultivo tem sido o bijupirá (*Rachycentron canadum*).

O bijupirá, também conhecido como cobia, é uma espécie epipelágica, eurialina e euritérmica (SHAFFER & NAKAMURA, 1989; RESLEY et al., 2006), que apresenta comportamento migratório e ampla distribuição geográfica. É um peixe ativo, sem bexiga natatória (RESLEY et al., 2006), de hábito solitário (VAN DER VELDE et al., 2009), formando agregados populacionais apenas durante o período de desova. Possui hábito alimentar carnívoro, alimentando-se de peixes bentônicos, crustáceos e lulas, e pode atingir mais de 2 m de comprimento e até 60 kg (ARENDDT et al., 2001; HOLT et al., 2007).

As primeiras tentativas de cultivo desta espécie começaram em Taiwan no início da década de 1990 e foram bem-sucedidas. O rápido crescimento apresentado pela espécie, podendo alcançar de 6 a 8 kg em um ano de cativeiro, estimulou o desenvolvimento da produção comercial e de tecnologias para a produção intensiva de juvenis (LIAO et al., 2004).

A espécie apresenta outras características favoráveis à aquicultura, incluindo: reprodução em cativeiro (SOUZA-FILHO & TOSTA, 2008); aceitação de dietas extrusadas (CRAIG et al., 2006); carne de excelente qualidade (LIAO & LEAÑO, 2007), e resposta positiva à vacinação (LIN et al., 2006). Tais vantagens, aliadas à facilidade na produção de formas jovens têm estimulado muitos produtores a iniciar seus cultivos no Brasil.

Os resultados dos cultivos, entretanto, vêm sendo prejudicados por elevadas taxas de mortalidade. O pioneirismo da atividade e a ausência de boas práticas de manejo aliadas a não utilização de dietas de alto valor nutricional tem ocasionado baixas taxas de crescimento e o desenvolvimento de patógenos, inviabilizando economicamente a atividade (KERBER et al., 2011).

Apesar de o bijupirá aceitar dietas secas, na presente data ainda existe pouca base de informações para a formulação de dietas que atendam todas as exigências nutricionais da espécie ao longo de toda sua fase de crescimento até o peso de abate. Uma formulação adequada é importante não somente para que o animal possa expressar todo o seu potencial de crescimento, mas também para garantir a sua saúde, já que deficiências nutricionais acarretam uma série de doenças e aumentam a susceptibilidade a patógenos.

Para um crescimento saudável, *R. canadum*, assim como outros carnívoros marinhos, dependem de rações com elevado teor proteico e lipídico, necessitando de níveis adequados de DHA na dieta (TRUSHENSKI et al., 2012) e de suplementação com taurina (SALZE et al., 2011), cuja ausência provoca redução na sobrevivência larval e síndrome do fígado verde em adultos (GOTO et al., 2001; SALZE et al., 2011). Muitas das rações comerciais disponíveis utilizadas pelos produtores são, originalmente, formuladas para peixes de água doce, portanto, deficientes nestes nutrientes. Além disso, a elevada necessidade de inclusão de farinha e óleo de peixe para formulação de dietas nutricionalmente adequadas para peixes marinhos resultam em dietas de elevado custo, preteridas pelos produtores.

Buscando contornar esses problemas, muitos produtores de bijupirá utilizam alimento fresco, como a sardinha (*Sardinella brasiliensis*) ou rejeitos de pesca, para realizar a engorda da espécie. Essa prática é considerada controversa (BUNLIPATANON et al., 2014), pois além de ser uma possível fonte de eutrofização ambiental (XU et al., 2007), pode ser uma importante fonte de contaminação com patógenos (KIM et al., 2007), principalmente em peixes que estão nutricionalmente debilitados e/ou expostos a condições de imunossupressão.

Nesse contexto, os aspectos sanitários do cultivo tornam-se ainda mais relevantes. Considerando a importância do problema, esse trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão sobre um patógeno de especial relevância no cultivo de *R. canadum*, a bactéria *Photobacterium damsela*.

CARACTERIZAÇÃO DO PATÓGENO

Photobacterium damsela é uma bactéria gram-negativa halófila, representante da família Photobacteriaceae, que possui duas subespécies, *P. damsela* subsp. *piscicida* e *P. damsela* subsp. *damsela*, cujos primeiros registros datam de 1963 (SNIESZKO et al., 1964) e 1981 (LOVE et al., 1981), respectivamente.

Inicialmente descrita como *Vibrio damsela*, por ter sido encontrada em peixes da família Pomacentridae, ambas as subespécies já passaram por diversas redefinições taxonômicas, gerando dificuldade na obtenção de dados e em uma subestimação do número de casos. Na literatura é possível encontrar trabalhos utilizando as seguintes nomenclaturas: *Photobacterium damsela*, *Photobacterium damsela*, *Vibrio damsela*, *Vibrio damsela*, *Pasteurella damsela*, *Pasteurella piscicida* e *Listonella damsela*.

Photobacterium damsela* subsp. *piscicida

Patógeno responsável pela doença denominada fotobacteriose (também conhecida como pasteurelose ou pseudotuberculose). É de grande importância na aquicultura por ser encontrado globalmente em espécies de peixes marinhos cultivados (ROMALDE, 2002; HO et al., 2014), como *R. canadum* (LIAO et al., 2004), olhete (*Seriola quinqueradiata*) (GRAVNINGEN et al., 2008), pargo europeu (*Sparus aurata*) (HANIF et al., 2005), linguado (*Solea senegalensis*) (ARIJO et al., 2005) e robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) (KORUN & TIMUR, 2005).

Ela é caracterizada como uma bactéria gram negativa halofílica, imóvel, oxidase e catalase positiva, fermentativa sem produção de gás, que apresenta pleomorfismo, variando de cocóide à bastonetes longos dependendo do meio de cultura utilizado (ROMALDE, 2002; ROBERTS, 2012).

É considerada um patógeno primário, de transmissão horizontal (entre peixes), capaz de sobreviver na água do mar e manter sua capacidade infecciosa (MAGARIÑOS et al., 1994; ROBERTS, 2012), especialmente frente a peixes susceptíveis e imunodeprimidos. Além disso, uma vez que essa bactéria é frequentemente encontrada nas vísceras de peixes marinhos (MCLEAN et al., 2008), é provável que o intestino seja uma importante porta de entrada do patógeno.

Essa bactéria apresenta crescimento ótimo entre 22,5 e 30°C, podendo se desenvolver em uma faixa de temperatura que vai de 15 a

32,5°C. Entretanto, devido ao seu lento crescimento, pode ocorrer dificuldade no seu isolamento do hospedeiro, devido à competição com bactérias de rápido crescimento (ROMALDE, 2002, 2014).

Esta subespécie forma um grupo homogêneo que se difere da *P. damsela* subsp. *damsela*, em especial nas seguintes características: ausência de atividade hemolítica em meio ágar sangue e atividade negativa para redução do nitrato, urease, amilase e lípase (ROMALDE, 2002). Além disso, RAJAN et al. (2003) relataram ausência de crescimento em meio ágar tiossulfato citrato sais de bile sacarose (TCBS).

Os peixes afetados de forma crônica apresentam coloração enegrecida, letargia e falta de interesse por alimento, enquanto animais afetados de forma aguda apresentam úlceras e erosões na superfície epidérmica da cabeça e nadadeiras. Internamente, os animais apresentam fígado pálido com volume aumentado e desenvolvem granulomas em órgãos como rim, baço e fígado, progredindo para um quadro de septicemia hemorrágica generalizada (ROBERTS, 2012; SILVA, 2012).

Photobacterium damsela* subsp. *damsela

A *P. damsela* subsp. *damsela* foi isolada, também, em diversas espécies marinhas cultivadas, como do turbot (*Scophthalmus maximus*) (FOUZ et al. 1992), de *S. quinqueradiata* (SAKATA et al., 1989) e até de tubarões mantidos em aquários (GRIMES et al., 1984).

Ela é também uma bactéria gram negativa halofílica e pleomófica, geralmente com formato de bacilo, mas que, ao contrário da *P. damsela* subsp. *piscicida*, apresenta elevada atividade hemolítica e cresce em meio TCBS (AUSTIN & AUSTIN, 2007; ROBERTS, 2012).

É considerado um patógeno oportunista (ROBERTS, 2012), transmitido pela água (FOUZ et al., 1998) e capaz de sobreviver aos mecanismos bactericidas do muco. Estima-se que exista uma distribuição sazonal na incidência da doença, estando sua maior prevalência associada às temperaturas mais altas e ao estresse da reprodução (AUSTIN, 2010). Além disso, também está associada a danos traumáticos (ex: cortes e perfurações) (ROBERTS, 2012), sendo o tegumento uma importante via de entrada do patógeno (AUSTIN & AUSTIN, 2007).

Os peixes afetados apresentam lesões ulcerativas no tegumento, em especial na região da nadadeira peitoral e pedúnculo caudal, que podem atingir até 2 cm de diâmetro (AUSTIN, 2010). Na lesão ocorre lise do tecido muscular e exames histopatológicos apontam para presença de dermatite ulcerativa granulomatosa, que se desenvolve em uma septicemia generalizada com extensa hemorragia (AUSTIN & AUSTIN,

2007; ROBERTS, 2012). LOVE et al. (1981) descreveram mortalidades ocorrendo em 4 dias a temperaturas entre 16,0 e 16,5 °C.

Um de seus principais mecanismos de virulência é a fosfolipase hemolítica *damselysin* (Dly) (PEDERSEN et al., 2009; HUNDENBORN et al., 2013). Porém, outros produtos extracelulares também estão envolvidos na citotoxicidade do patógeno (AUSTIN, 2010). Segundo FOUZ et al. (1993), a DL₅₀ referente aos produtos extracelulares é de 0,02 a 0,43 µg de proteína g⁻¹, sendo que as mortalidades ocorrem entre 4 e 72 horas.

Importância da *P. damsela* no mundo

Ambas as subespécies são importantes do ponto de vista sanitário, podendo ser consideradas ameaças tanto em relação à atividade econômica quanto à saúde humana.

Photobacterium damsela subsp. *piscicida* representa um dos maiores problemas no cultivo de *R. canadum* ao longo de todo o ciclo produtivo, sendo responsável por mortalidades superiores a 80% (TUNG et al., 2000; LOPEZ et al., 2002). Desde o início do cultivo de bijupirá em Taiwan, ela foi responsável por mortalidades massivas e grandes prejuízos econômicos (TUNG et al., 2000; LIAO et al., 2004), que inviabilizaram o crescimento da atividade e estimularam o desenvolvimento de vacinas específicas (LIN et al., 2006; HO et al., 2011).

Além disso, *P. damsela* subsp. *piscicida* é um patógeno amplamente distribuído, com registros de surtos em diversos países, incluindo: Taiwan (LIAO et al., 2004); Japão (TORANZO et al., 2005); Grécia (BAKOPOULOS et al., 1995); Malta (BAKOPOULOS et al., 1997); Turquia (KORUN & TIMUR, 2005); Espanha (TORANZO et al., 1991); França (BAUDIN LAURENCIN et al., 1991); Itália (CESCHIA et al., 1991); Portugal (BAPTISTA et al., 1996).

A peculiaridade da subespécie *damsela* reside em sua capacidade de infectar outros grupos animais, incluindo o ser humano, sendo, portanto, considerada uma zoonose (ASATO & KANAYA, 2004; ROBERTS, 2012; HUNDENBORN et al., 2013). Apesar de relativamente rara, com aproximadamente 20 casos de infecção humana relatados na literatura, costuma ser letal (HUNDENBORN et al., 2013). Na grande maioria dos casos, o paciente desenvolve uma fasciíte necrótica que evolui para óbito, às vezes em apenas 20 horas (YAMANE et al., 2004), e nos poucos casos onde o paciente foi curado, em geral foi

necessária amputação de um membro ou profundas remoções cirúrgicas de tecido (COFFEY JR et al., 1986; BARBER & SWYGERT, 2000).

A principal forma de infecção em humanos é por meio de lacerações ou perfurações durante a manipulação de peixes infectados (HUNDENBORN et al., 2013), entretanto, a ingestão *in natura* de animais contaminados também é uma possível via de infecção (SHIN et al., 1996).

A elevada taxa de mortalidade em humanos pode estar relacionada à dificuldade dos profissionais de saúde na identificação correta do patógeno e consequente aplicação de um tratamento adequado, uma vez que se trata de um patógeno incomum. Por outro lado, essa mesma questão pode implicar em um número muito maior de casos de infecções não identificadas ou não relatadas.

Fotobacteriose no Brasil

No Brasil, os primeiros registros de *P. damsela* em bijupirás cultivados datam de 2011, quando FIGUEIREDO et al. (2011) publicaram uma matéria em revista de divulgação chamando atenção para a importância da fotobacteriose, e, logo em seguida, apresentaram um resumo no congresso internacional World Aquaculture 2011 relatando sua presença em juvenis provenientes de larvicultura. De acordo com os autores, a identificação da bactéria foi confirmada por método fenotípico, com a utilização do teste API 20E, e de método molecular, com sequenciamento do gene 16S rRNA.

Ainda no mesmo ano, em novembro, foram apresentados no 38º CONBRAVET dois trabalhos relatando a presença de *P. damsela* em animais cultivados no Estado de São Paulo, sendo publicados como resumos expandidos. Ambos os trabalhos realizaram a identificação através do método fenotípico, através do teste API 20E, sendo que um dos resumos relatou o crescimento da cepa bacteriana em meio TCBS, característico da subespécie *damsela*.

SHIMADA et al. (2014), apresentando uma continuação dos estudos dos quais derivam-se os resultados apresentados em 2011 no 38º CONBRAVET, relataram a identificação molecular de uma das cepas da bactéria como *P. damsela* subsp. *piscicida* e descreveram os seguintes sinais clínicos nos animais infectados: letargia; úlceras nas nadadeiras; fígados pálidos, com volume aumentado e com presença de nódulos granulomatosos com diâmetro entre 0,5 e 2 mm. Tais sinais clínicos correspondem àqueles normalmente relatados para fotobacteriose (ROBERTS, 2012).

NASCIMENTO et al. (2014) também realizaram análises bacteriológicas, a partir de fragmentos de órgãos internos, em 74 animais aparentemente saudáveis cultivados no nordeste brasileiro, obtendo uma porcentagem de isolamento de 96% (71 peixes). Estes autores não relataram a presença de *P. damsela*, porém, utilizaram apenas ágar TCBS como meio de isolamento, restringindo a capacidade de isolar ambas as subespécies (RAJAN et al., 2003; KORUN & TIMUR, 2005).

Desta forma, é possível perceber que apesar da inexistência de um registro oficial da doença, a fotobacteriose é uma realidade nos cultivos de bijupirá no Brasil, onde vem causando uma série de prejuízos econômicos muitas vezes mascarados pelo desconhecimento da doença. Situação que se torna ainda mais grave levando em consideração as demais dificuldades experimentadas pelos produtores e que vem efetivamente inviabilizando o desenvolvimento do cultivo de *R. canadum* no Brasil.

Estratégias de detecção, controle e prevenção

Em virtude da importância desta doença, faz-se necessário a utilização de técnicas adequadas de detecção e diagnóstico do patógeno. Entre os métodos mais apropriados destacam-se: sistemas miniaturizados como API 20E (padrão 2005004) (SANTOS et al., 1993), que é capaz de detectar a espécie, mas incapaz de diferenciar as subespécies; kits comerciais de testes imunoenzimáticos (ROMALDE et al., 1999); e PCR multiplex dos genes 16S rRNA e ureC, capazes de diferenciar as subespécies *piscicida* e *damsela* (OSORIO et al., 2000).

RAJAN et al. (2003) sugerem o uso combinado da detecção por PCR do gene 16S rRNA com a diferenciação em meio TCBS para discriminar as subespécies, uma vez que somente o gene 16S rRNA é incapaz de diferenciar as subespécies deste patógeno (OSORIO et al., 1999). Já HUNDENBORN et al. (2013) reporta sucesso na detecção e discriminação deste patógeno utilizando sistema MALDI-TOF de espectrofotometria de massa.

Além de serem capazes de detectar o patógeno, os países que experimentaram problemas sanitários com *P. damsela* tiveram que adotar medidas de controle e prevenção para conseguir conviver com a doença, em especial a utilização de vacinas (ROMALDE, 2002; GUDDING & VAN MUISWINKEL, 2013).

As primeiras tentativas de imunização contra *P. damsela* subsp. *piscicida* remontam ao final da década de 1980 e meados da década de 1990 (ROMALDE, 2014), havendo muito progresso desde então,

especialmente devido à uniformidade sorológica do patógeno, que facilitou o desenvolvimento de ferramentas de diagnóstico e também de vacinas específicas e eficientes (THUNE et al., 2003; ROMALDE, 2014). Atualmente, existem vacinas específicas para *P. damsela* comercializadas por empresas internacionais (GUDDING & VAN MUISWINKEL, 2013), além de pesquisas para o desenvolvimento de novas vacinas de segunda geração que prometem ser ainda mais eficientes (HO et al., 2011, 2014).

LIN et al. (2006) relataram produção de anticorpos uma semana após a injeção e taxas de sobrevivência superiores à 80% em *R. canadum* vacinados em comparação com animais não vacinados que apresentaram sobrevivência inferior a 20%. Os autores ainda apontam *P. damsela* subsp. *piscicida* como a principal causa de mortalidade nos animais não vacinados.

ROMALDE (2014) discute que a melhor proteção contra fotobacteriose em *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata* é obtida utilizando uma vacina de microrganismos inteiros inativados, enriquecida com produtos extracelulares, fornecida via imersão no estágio larval (0,05 g), seguida de uma segunda dose nos juvenis (1-2 g) e de uma dose final fornecida via oral ou injeção já no local de engorda (30-50 g) (LE BRETON, 2009).

Outras possíveis estratégias de controle e prevenção deste patógeno são o cultivo de *R. canadum* em baixas salinidades (RESLEY et al., 2006), uma vez que a bactéria é incapaz de sobreviver nestas condições (TORANZO et al., 1982), e a utilização do imunostimulante levamisol (LEAÑO et al., 2003). O uso de antibióticos é uma opção, porém, deve ser analisado por um profissional qualificado e utilizado com cautela, pois pode induzir resistência bacteriana (KIM et al., 2008), contaminar o ambiente aquático (LALUMERA et al., 2004) e nem sempre é efetivo (ROMALDE, 2002). Além disso, no Brasil ainda não há autorização do uso de antibióticos para piscicultura marinha.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dada à importância econômica e sanitária de ambas as subespécies dessa bactéria, é mandatório que haja um melhor acompanhamento sanitário nos cultivos de *R canadum*, em especial na detecção do patógeno. A utilização de vacinas, apesar de representar mais um custo para os produtores, pode ser uma solução economicamente vantajosa, especialmente considerando-se que, além da redução na mortalidade, os peixes poderão expressar melhor seu potencial de crescimento.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ-LAJONCHÈRE. L.; TSUZUKI, M.Y. A review of methods for *Centropomus* spp. (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. **Aquaculture Research**, 39, p. 684-700, 2008.

ARENDRT, M.; OLNEY, J.; LUCY, J. Stomach content analysis of cobia, *Rachycentron canadum*, from lower Chesapeake Bay. **Fishery Bulletin**, v. 99, p. 665–670, 2001.

ARIJO, S. RICO, R.; CHABRILLON, M.; DIAZ-ROSALES, P.; MARTÍNEZ-MANZANARES, E.; BALEBONA M.C.; MAGARIÑOS, B.; TORANZO, A.E.; MORIÑIGO, M.A. Effectiveness of a divalent vaccine for sole, *Solea senegalensis* (Kaup), against *Vibrio harveyi* and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. **Journal of Fish Diseases**, v. 28, n. 1, p. 33–8, 2005.

ASATO, J.; KANAYA, F. Fatal Infection of the Hand Due to *Photobacterium damsela*: A Case Report. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 100–101, 2004.

AUSTIN, B. Vibrios as causal agents of zoonoses. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 3-4, p. 310–7, 2010.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D. A. **Bacterial Fish Pathogens**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007.

- BAKOPOULOS, V.; ADAMS, A.; RICHARDS, R. H. Some biochemical properties and antibiotic sensitivities of *Pasteurella piscicida* isolated in Greece and comparison with strains from Japan, France and Italy. **Journal of Fish Diseases**, v. 18, p. 1-7, 1995.
- BAKOPOULOS, V.; PERIC, Z.; RODGER, H.; ADAMS, A.; RICHARDS, R. First report of fish pasteurellosis from Malta. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 9, p. 26-33, 1997.
- BAPTISTA, T.; ROMALDE, J. L.; TORANZO, A. E. First occurrence of pasteurellosis in Portugal affecting cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists**, v. 16, p. 92-95. 1996.
- BARBER, G. R.; SWYGERT, J. S. Necrotizing fasciitis due to *Photobacterium damsela* in a man lashed by a stingray. **New England Journal of Medicine**, v. 342, p. 824, 2000.
- BAUDIN LAURENCIN, F.; PEPIN, J.; RAYMOND, J. First observation of an epizootic of pasteurellosis in farmed and wild fish of the French Mediterranean coasts. *In*: EAFF. **Abstracts of the 5th International Conference of the European Association of Fish Pathology**. Budapest: European Association of Fish Pathologists, 1991, p. 17.
- BUNLIPATANON, P.; SONGSEECHAN, N.; KONGKEO, H.; ABERY, N. W.; SILVA, S. S. Comparative efficacy of trash fish versus compounded commercial feeds in cage aquaculture of Asian seabass (*Lates calcarifer*) (Bloch) and tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) (Forsskål). **Aquaculture Research**, v. 45, n. 3, p. 373–388, 2014.
- CAVALLI, R. O.; HAMILTON, S. Piscicultura marinha no Brasil com ênfase na produção do beijupirá. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Suplemento**, v. 6, p. 64–69, 2009.
- CESCHIA, G.; QUAGLIO, F.; GIORGETTI, G.; BERTOJA, G.; BOVO, G. Serious outbreak of pasteurellosis (*Pasteurella piscicida*) in euryhaline species along the Italian coasts. *In*: EAFF. **Abstracts of the 5th International Conference of the European Association of Fish Pathology**. Budapest: European Association of Fish Pathologists, 1991, p. 26.

COFFEY JR, J.A.; HARRIS, R. L.; RUTLEDGE, M. L.; BRADSHAW, M. W.; WILLIAMS, T. W. *Vibrio damsela*: another potentially virulent marine *Vibrio*. **The Journal of Infectious Diseases**, v.153, p.800–802, 1986.

CRAIG, S.R.; SCHWARZ, M.H.; MCLEAN, E. Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. **Aquaculture**, v.261, p.384-391, 2006.

FIGUEIREDO, H.C.P.; LEAL, C.A.G.; COSTA, F.A.A. . Fotobacteriose em bijupirá cultivado: uma velha doença em uma produção nova. **Revista Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro - RJ, p. 30 - 35, 2011.

FOUZ, B.; LARSEN, J. L.; NIELSEN, B.; BARJA, J.L.; TORANZO, A. E. Characterization of *Vibrio damsela* strains isolated from turbot *Scophthalmus maximus* in Spain. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 12, p. 155-166, 1992.

FOUZ, B.; BARJA, J. L.; AMARO, C.; RIVAS, C.; TORANZO, A. E. Toxicity of the extracellular products of *Vibrio damsela* isolated from diseased fish. **Current Microbiology**, v. 27, p. 341-347, 1993.

FOUZ, B.; TORANZO, A. E.; MARCO-NOALES, E.; AMARO, C. Survival of fish virulent strains of *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* in seawater under starvation conditions. **FEMS microbiology letters**, v. 168, p. 181–186, 1998.

GOTO, T.; TAKAGI, S.; ICHIKI, T.; SAKAI, T.; ENDO, M.; YOSHIDA, T.; UKAWA, M.; MURATA, H. Studies on the green liver in cultured red sea bream fed low level and non-fish meal diets: Relationship between hepatic taurine and biliverdin levels. **Fisheries science**, v. 67, p. 58-63, 2001.

GRAVNINGEN, K.; SAKAI, M.; MISHIBA, T.; FUJIMOTO, T. The efficacy and safety of an oil-based vaccine against *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*): a field study. **Fish & shellfish immunology**, v. 24, n. 5, p. 523–9, 2008.

GRIMES, D.J.; COLWELL, R. R.; STEMMLER, J.; HADA, H.; MANEVAL, D.; HETRICK, F. M.; MAY, E. B.; JONES, R. T.; STOSKOPF, M. *Vibrio* species as agents of elasmobranch disease. **Helgolander Meeresunters**, v. 37, p. 309-315, 1984.

GUDDING, R.; VAN MUISWINKEL, W. B. A history of fish vaccination: science-based disease prevention in aquaculture. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 35, n. 6, p. 1683–8, dez. 2013.

HAMILTON, S.; SEVERI, W.; CAVALLI, R. O. Biologia e Aquicultura do Beijupirá: Uma Revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, p. 461–477, 2013.

HANIF, A.; BAKOPOULOS, V.; LEONARDOS, I.; DIMITRIADIS, G. J. The effect of sea bream (*Sparus aurata*) broodstock and larval vaccination on the susceptibility by *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* and on the humoral immune parameters. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 19, n. 4, p. 345–61, 2005.

HO, L.-P.; HAN-YOU LIN, J.; LIU, H. C.; CHEN, H. E.; CHEN, T. Y.; YANG, H. L. Identification of antigens for the development of a subunit vaccine against *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 30, n. 1, p. 412–9, 2011.

HO, L.-P.; CHANG, C. J.; LIU, H. C.; YANG, H. L.; LIN, J. Y. Evaluating the protective efficacy of antigen combinations against *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* infections in cobia, *Rachycentron canadum* L. **Journal of Fish Diseases**, v. 37, n. 1, p. 51–62, 2014.

HOLT, J.G.; FAULK, C.K.; SCHWARZ, M.H. A review of the larviculture of cobia *Rachycentron canadum*, a warm water marine fish. **Aquaculture**, v. 268, p. 181–187, 2007.

HUNDENBORN, J.; THURIG, S.; KOMMERELL, M.; HAAG, H.; NOLTE, O. Severe Wound Infection with *Photobacterium damsela* ssp. *damsela* and *Vibrio harveyi*, following a Laceration Injury in Marine Environment: A Case Report and Review of the Literature. **Case Reports in Medicine**, v. 2013, p. 610- 632, 2013.

KERBER, C.E.; SANCHES, E. G.; SANTIAGO, M.; LUQUE, J. L. First record of *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) in sea-farmed cobia (*Rachycentron canadum*) in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, p. 331-333, 2011.

KIM, J. H.; GOMEZ, D. K.; CHORESCA JR, C. H.; PARK, S. C. Detection of major bacterial and viral pathogens in trash fish used to feed cultured flounder in Korea. **Aquaculture**, v. 272, p. 105-110, 2007.

KIM, M.-J.; HIRONO, I.; KUROKAWA, K.; MAKI, T.; HAWKE, J.; KONDO, H.; SANTOS, M. D.; AOKI, T. Complete DNA sequence and analysis of the transferable multiple-drug resistance plasmids (R Plasmids) from *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* isolates collected in Japan and the United States. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 2, p. 606–11, 2008.

KORUN, J.; TIMUR, G. The first pasteurellosis case in cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) at low marine water temperatures in Turkey. **The Israeli Journal of Aquaculture**, v. 57, p. 197–206, 2005.

LALUMERA, G. M.; CALAMARI, D.; GALLI, P.; CASTIGLIONI, S.; CROSA, G.; FANELLI, R. Preliminary investigation on the environmental occurrence and effects of antibiotics used in aquaculture in Italy. **Chemosphere**, v. 54, p. 661-668, 2004.

LE BRETON, A.D. Vaccines in Mediterranean aquaculture: practice and needs. In: ROGERS, C.; BASURCO B. (eds.). **The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture**. Zaragoza: CIHEAM, 2009. p. 147-154 (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 86)

LEAÑO, E.; GUO, J. J. ; CHANG, S. L. ; LIAO, I. C. Levamisole enhances non-specific immune response of Cobia, *Rachycentron canadum*, fingerlings. **Journal of the Fisheries Society of Taiwan**, v. 30, n. 4, 2003.

LIAO, I. C.; HUANG, T. S.; TSAI, W. S.; HSUEH, C. M.; CHANG, S. L.; LEAÑO, E. M. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Fisheries Research**, v. 237, p. 155 – 165, 2004.

- LIAO, I. C., LEAÑO, E.M. **Cobia aquaculture: research, development and commercial production**. Taiwan: Asian Fisheries Society, 2007. 178p.
- LIN, J. H. Y.; CHEN, T. Y.; CHEN, M. S.; CHEN, H. E.; CHOU, R. L.; CHEN, T. I.; SU, M.S.; YANG, H. L. Vaccination with three inactivated pathogens of cobia (*Rachycentron canadum*) stimulates protective immunity. **Aquaculture**, v. 255, p. 125–132, 2006.
- LIU, L.; LIU, C. W.; LIANG, N. A. Genetic analysis of population of cobia, *Rachycentron canadum* around Zhanjiang waters of South China Sea with microsatellite markers. **Journal of Tropical Oceanography**, v. 27, p. 57-61, 2008.
- LOPEZ, C.; RAJAN, P.R.; LIN, J.H.-Y.; YANG, H.-L. Disease outbreak in sea farmed cobia, *Rachycentron canadum* associated with *Vibrio* spp., *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida*, monogenean and myxosporean parasites. **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists**, v. 23, p. 206–211, 2002.
- LOVE, M.; FISHER, D.T.; HOSE, J.E.; FARMER, J.J.; HICKMAN, F.W.; FANNING, G.R. *Vibrio damsela*, a marine bacterium, causes skin ulcers on the damselfish *Chromis*. **Science**, v. 214, p. 1139–40, 1981.
- MAGARIÑOS, B.; ROMALDE, J.L.; TORANZO, A.E. Evidence for a dormant but infective stage of the fish pathogen *Pasteurella piscicida*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 180 – 186, 1994.
- MCLEAN, E.; SALZE, G.; CRAIG, S. R. Parasites, Diseases and Deformities of Cobia. **Ribarstvo**, v. 66, p. 5–20, 2008.
- NASCIMENTO, D. L.; BARROS, C.N.; SILVA, A.D.R.; GUIMARÃES, J.M.; PEDROSA, V.F.; MENDES, E.S. Bactérias potencialmente patogênicas isoladas de beijupirá (*Rachycentron canadum*) cultivadas em sistema offshore. **Medicina Veterinária**, v. 8, p. 12-21, 2014.

OSORIO, C. R.; COLLINS, M. D.; TORANZO, A. E.; BARJA, J. L.; ROMALDE, J. L. 16S rRNA Gene Sequence Analysis of *Photobacterium damsela* and Nested PCR Method for Rapid Detection of the Causative Agent of Fish Pasteurellosis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2942–2946, 1999.

OSORIO, C. R.; TORANZO, A. E.; ROMALDE, J. L.; BARJA, J. L. Multiplex PCR assay for ureC and 16S rRNA genes clearly discriminates between both subspecies of *Photobacterium damsela*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 40, n. 3, p. 177–83, 20 abr. 2000.

PEDERSEN, K.; SKALL, H. F.; LASSEN-NIELSEN, A. M.; BJERRUM, L.; OLESEN, N. J. *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, an emerging pathogen in Danish rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), mariculture. **Journal of Fish Diseases**, v. 32, p. 465–472, 2009.

RAJAN, P. R.; LIN, J. Y.; HO, M. S.; YANG, H. L. Simple and rapid detection of *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* by a PCR technique and plating method. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 1375–1380, 2003.

RESLEY, M. J.; WEBB, K. A.; HOLT, G. J. Growth and survival of juvenile coho, *Rachycentron canadum*, at different salinities in a recirculating aquaculture system. **Aquaculture**, v. 253, n. 1–4, p. 398–407, mar. 2006.

ROBERTS, R. J. **Fish Pathology**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2012.

ROMALDE, J. L.; MAGARIÑOS, B.; LORES, F.; OSORIO, C. R.; TORANZO, A. E. Assessment of a magnetic bead-EIA based kit for rapid diagnosis of fish pasteurellosis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 38, p. 147–154, 1999.

ROMALDE, J. L. *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*: an integrated view of a bacterial fish pathogen. **International microbiology: the official journal of the Spanish Society for Microbiology**, v. 5, p. 3–9, 2002.

ROMALDE, J. L. Vaccination against Photobacteriosis, In: GUDDING, R.; LILLEHAUG, A.; EVENSEN, Ø. (Eds.) **Fish Vaccination**. Oxford, 2014.

SAKATA, T.; MATSUURA, M.; SHIMKAWA, Y. Characteristics of *Vibrio damsela* isolated from diseased yellowtail *Seriola quinqueradiata*. **Bulletin of the Japanese Society of Fisheries Science**, v. 55, p. 135–141, 1989.

SALZE, G.; CRAIG, S. R.; SMITH, B. H.; SMITH, E. P.; MCLEAN, E. Morphological development of larval cobia *Rachycentron canadum* and the influence of dietary taurine supplementation. **Journal of Fish Biology**, v. 78, p. 1470–91, 2011.

SANCHES, E.G.; OLIVEIRA, I.R.; SERRALHEIRO, P.C.S. Semen cryopreservation of dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Teleostei, Serranidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, p. 389-399, 2009.

SANCHES, E.G.; CERQUEIRA, V.R. Refrigerated storage of lane snapper *Lutjanus synagris* sperm. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, p. 293 – 305, 2010.

SANCHES, E.G.; OLIVEIRA, I. R.; SERRALHEIRO, P. C.; CERQUEIRA, V. R. Cryopreservation of mutton snapper (*Lutjanus analis*) sperm. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 1083-1091, 2013.

SANCHES, E.G.; TOSTA, G.A.M.; SOUZA-FILHO, J.J. Economic feasibility of cobia juvenile production (*Rachycentron canadum*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, p. 15-26, 2013a.

SANTOS, Y.; ROMALDE, J. L.; BANDIN, I.; MAGARINOS, B.; NUNEZ, S.; BARJA, J. L.; TORANZO, A. E. Usefulness of the API-20E system for the identification of bacterial fish pathogens. **Aquaculture**, v. 116, p. 111–120, 1993.

SHAFFER, R.V.; NAKAMURA, E.L. **Synopsis of biological data on the cobia *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae)**. Washington D.C.: U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Report, 1989. (FAO Fisheries Synopsis 153)

SHIMADA, M. T.; CLAUDIANO, G. S.; ENGRACIA FILHO, J. R.; YUNIS, J.; MORAES, F. R. Hepatic Steatosis in Cage-Reared Young Cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766) in Brazil. **Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis**, v. 3, p. 2–5, 2014.

SHIN, J. H.; SHIN, M. G.; SUH, S. P.; RYANG, D. W.; REW, J. S.; NOLTE, F. S. Primary *Vibrio damsela* septicemia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 22, p. 856–857, 1996.

SILVA, Ana Carolina da. Aspectos ictiopatológicos de bijupirás (*Rachycentron canadum*) criados em tanques-rede no litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012. 48 p

SNIESZKO S.F.; BULLOCK, G. L.; HOLLIS, E.; BOONE, J. G. *Pasteurella* sp. from an epizootic of white perch (*Roccus americanus*) in Chesapeake Bay tidewater areas. **Journal of Bacteriology**, v 88, p.1814–1815, 1964.

SOUZA-FILHO, J.J.; TOSTA, G.A.M. Bijupirá: as primeiras desovas da geração F1. **Panorama da Aqüicultura**, v.18, n.110, p.50-53, 2008.

THUNE, R.; FERNANDEZ, D. H.; HAWKE, J. P.; MILLER, R. Construction of a safe, stable, efficacious vaccine against *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 57, p. 51–58, 2003.

TORANZO, A.E.; BARJA, J.L.; HETRICK, F.H. Survival of *Vibrio anguillarum* and *Pasteurella piscicida* in estuarine and freshwaters. **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists**, v. 3, p. 43-45, 1982.

TORANZO, A. E.; BARREIRO, S.; CASAL, J. F.; FIGUERAS, A.; BARJA, J. L. Pasteurellosis in cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*) - First report in Spain. **Aquaculture**, v. 99, p. 1-15, 1991.

TORANZO, A. E.; MAGARIÑOS, B.; ROMALDE, J. L. A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. **Aquaculture**, v. 246, p. 37-61, 2005.

TRUSHENSKI, J.; SCHWARZ, M.; BERGMAN, A.; ROMBENSO, A.; DELBOS, B. DHA is essential, EPA appears largely expendable, in meeting the n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid requirements of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 326-329, p. 81–89, 2012.

TUNG, M. C.; CHANG, L. T.; TSAI, S. S.; WANG, D. H. Mass mortality associated with *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* in sea-cage cultured cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1776) in southern Taiwan. **FA COA Aquaculture Series**, (1), 133-145, 2000.

VAN DER VELDE, T. D.; GRIFFITHS, S. P.; FRY, G. C. Reproductive biology of the commercially and recreationally important cobia *Rachycentron canadum* in northeastern Australia. **Fisheries Science**, v. 76, n. 1, p. 33–43, 2009.

XU, Z.; LIN, X.; LIN, Q.; YANG, Y.; WANG, Y. Nitrogen, phosphorus, and energy waste outputs of four marine cage-cultured fish fed with trash fish. **Aquaculture**, v. 263, p. 130–141, 2007.

YAMANE, K.; ASATO, J.; KAWADE, N.; TAKAHASHI, H.; KIMURA, B.; ARAKAWA, Y. Two cases of fatal necrotizing fasciitis caused by *Photobacterium damsela* in Japan. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 1370–1372, 2004.

CAPÍTULO 2

Deteccão de fotobacteriose em *Rachycentron canadum* cultivados na região Sudeste

Eduardo Luiz Tavares Gonçalves ⁽¹⁾; Eduardo Gomes Sanches ⁽²⁾; Justin L. Sanders ⁽³⁾; Maurício Laterça Martins ⁽¹⁾ e Mônica Yumi Tsuzuki ⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Laboratório AQUOS - Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Admar Gonzaga 1346, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil. - eltgoncalves@gmail.com, mauricio.martins@ufsc.br

⁽²⁾ Pesquisador Científico do Instituto de Pesca, Estrada Professor Joaquim Lauro Monte Claro 2.275, Praia do Itaguá, Ubatuba, SP, Brasil - esanches@pesca.sp.gov.br

⁽³⁾ Department of Microbiology, Oregon State University, 226 Nash Hall, Corvallis, OR 97331. - Office: 541-737-1859

⁽⁴⁾ Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Servidão dos Coroas S/N, Barra da Lagoa, Florianópolis, SC, Brasil. - monica.tsuzuki@ufsc.br

Resumo: *Photobacterium damsela* é considerado um dos principais patógenos de peixes marinhos cultivados, tendo sido responsável por importantes prejuízos econômicos em diversos países. No Brasil, esta bactéria não vem recebendo a devida importância, apesar de já ter sido detectada afetando cultivos de *Rachycentron canadum*. Entre maio de 2014 e fevereiro de 2015, tubos de ensaio com caldo BHI estéril foram inoculados com fragmentos de fígado removidos assepticamente de 51 espécimes de *R. canadum* coletados nos municípios de Ubatuba - SP, Ilha Grande - RJ, Guarapari - ES e Ilha Bela - SP, obtendo-se assim uma amostra representativa dos cultivos desta espécie em toda costa sudeste do Brasil. Em seguida realizou-se análises de identificação molecular em 29 amostras, utilizando como base a reação em cadeia da polimerase dos primers UreC e CAR da região 16S. Aproximadamente 70% das amostras coletadas apresentaram crescimento bacteriano positivo e 97% das amostras analisadas através de PCR foram positivas para *P. damsela*. Foi verificada a presença de ambas as subespécies *P. damsela* subsp. *piscicida* e *P. damsela* subsp. *damsela*. Os dados apresentados evidenciam a relevância da fotobacteriose na região Sudeste e demonstram a necessidade da adoção de medidas sanitárias, notadamente a utilização de vacinas específicas para *P. damsela*.

Termos para indexação: Piscicultura marinha, Sanidade animal, Zoonose, Aquicultura, *Rachycentron canadum*

Abstract: *Photobacterium damsela* is considered one of the most important pathogens of marine fish culture, being responsible for major economical impacts in a variety of countries. In Brazil, this bacterium has not been getting proper attention, even though it has been detected in farmed *Rachycentron canadum*. Between May 2014 and February 2015, sterile BHI tubes were inoculated with liver fragments aseptically removed from 51 specimens of *R. canadum* obtained from Ubatuba - SP, Ilha Grande – RJ, Guarapari – ES and Ilha Bela – SP, a representative sample from the species production on the Southeast Coast of Brazil. Afterwards, 29 samples were identified by molecular analysis using polymerase chain reaction of UreC and 16S CAR primers. Approximately 70% of collected samples showed bacterial growth and 97% of samples analysed by PCR were positive for *P. damsela*. Both *P. damsela* subsp. *piscicida* and *P. damsela* subsp. *damsela* subspecies were found. Data show the importance of photobacteriosis on the southeast coast of Brazil and demonstrate the need for adoption of sanitary precautionary measures, notably use of *P. damsela*. specific vaccines.

Index terms: Marine fish culture, Animal health, Zoonosis, Aquaculture, *Rachycentron canadum*

O bijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766), também conhecido como cobia, tem despertado grande interesse do setor privado e da comunidade científica em razão de ser uma espécie marinha de cultivo emergente (CAVALLI; HAMILTON, 2007), entretanto, os resultados dos cultivos vêm sendo prejudicados por elevadas taxas de mortalidade associadas à patógenos, dentre os quais vêm despontando a bactéria *Photobacterium damsela*.

P. damsela é uma bactéria gram-negativa halófila, representante da família Photobacteriaceae, que possui duas subespécies, *P. damsela* subsp. *piscicida* e *P. damsela* subsp. *damsela*, cujos primeiros registros datam de 1963 (SNIESZKO et al., 1964) e 1981 (LOVE et al., 1981), respectivamente.

A bactéria *P. damsela* subsp. *piscicida* é a causadora da doença denominada fotobacteriose, responsável por prejuízos econômicos em diversas espécies de peixes marinhos cultivados (ROMALDE, 2002; LIAO et al., 2004; ARIJO et al., 2005; HANIF et al., 2005; KORUN & TIMUR, 2005; GRAVNINGEN et al., 2008; HO et al., 2014).

Por sua vez, a bactéria *P. damsela* subsp. *damsela* difere-se da *P. damsela* subsp. *piscicida*, nas seguintes características: presença de atividade hemolítica em meio ágar sangue, e atividade positiva para redução do nitrato, urease, amilase e lipase (ROMALDE, 2002).

Ambas as subespécies são importantes do ponto de vista sanitário, podendo ser consideradas ameaças tanto em relação à atividade econômica quanto à saúde humana.

Photobacterium damsela subsp. *piscicida* representa um dos maiores problemas no cultivo de *R. canadum* ao longo de todo o ciclo produtivo, sendo responsável por mortalidades superiores a 80% (TUNG et al., 2000; LOPEZ et al., 2002). Desde o início do cultivo de bijupirá em Taiwan, ela foi responsável por mortalidades massivas e grandes prejuízos econômicos (TUNG et al., 2000; LIAO et al., 2004), que inviabilizaram o crescimento da atividade e estimularam o desenvolvimento de vacinas específicas (LIN et al., 2006; HO et al., 2011).

Já a peculiaridade da subespécie *damsela* reside em sua capacidade de infectar outros grupos animais, incluindo o ser humano, sendo, portanto, considerada uma zoonose (ASATO & KANAYA, 2004; ROBERTS, 2012; HUNDENBORN et al., 2013), que apesar de relativamente rara, com aproximadamente 20 casos de infecção humana relatados na literatura, costuma ser letal (HUNDENBORN et al., 2013).

Os primeiros registros de *P. damsela* em bijupirás cultivados no Brasil datam de 2011, quando FIGUEIREDO et al. (2011) publicaram

uma matéria em revista de divulgação chamando atenção para a importância da fotobacteriose, e, logo em seguida, apresentaram um resumo no congresso internacional World Aquaculture 2011 relatando sua presença em juvenis provenientes de larvicultura. Quatro anos depois, SHIMADA (2015) apresentou uma tese no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), tratando especificamente sobre a ocorrência de fotobacteriose (pasteurelose) em juvenis de *Rachycentron canadum*.

Entre maio de 2014 e fevereiro de 2015, um total de cinquenta e um espécimes de *R. canadum* foram coletados nos municípios de Ubatuba - SP, Ilha Grande - RJ, Guarapari - ES e Ilha Bela - SP, obtendo-se assim uma amostra representativa dos cultivos desta espécie em toda costa sudeste do Brasil.

Os peixes foram anestesiados com uma solução de eugenol (75 mg L⁻¹), submetidos à biometria, eutanásia e em seguida à coleta asséptica de fragmentos do fígado, que foram semeados em tubos de ensaio com caldo BHI estéril. Os tubos de ensaio inoculados foram lacrados e incubados a temperatura ambiente por 24 horas, sendo posteriormente mantidos sob refrigeração para transporte e posterior exame microbiológico no Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Além disso, o fígado de cada espécime foi removido e pesado para determinação do índice hematossomático (IHS) e o fator de condição relativo (Kn) foi calculado de acordo com Le Cren (1951).

A metodologia utilizada para identificação de crescimento bacteriano teve como base análise da turbidez, de acordo com as técnicas descritas por Austin e Austin (2007), sendo consideradas positivas as amostras que apresentaram turvação do meio de cultura BHI. Os tubos de ensaio contendo amostras consideradas positivas para crescimento bacteriano foram congelados e posteriormente submetidos a processo de extração de DNA com auxílio do Ultra Clean Microbial DNA Isolation Kit da marca Mobio. O DNA extraído foi enviado para o Department of Microbiology da Oregon State University, onde foi identificado através de PCR de acordo com Osorio et al (2000).

Todos os dados são apresentados no formato de média \pm desvio padrão (mínimo - máximo) e todos os protocolos utilizados seguiram os procedimentos regulamentados na Comissão de Ética na Utilização de Animais.

Os animais coletados apresentaram comprimento médio de 33,75 \pm 9,95 (13,68 - 62,69) cm, peso total médio de 353,99 \pm 391,33 (15,00 - 2560,40) e peso médio do fígado de 13,52 \pm 13,04 (0,54 - 75,60).

O valor médio do Kn foi $0,92 \pm 0,17$ (0,63 - 1,36), sendo que aproximadamente 20% dos animais apresentaram valores de Kn inferiores a 0,75, que indicam baixo grau de higidez. Em relação ao índice hepatossomático, verificou-se valores notadamente elevados, com média de $3,93 \pm 0,74$ (1,85 - 6,09), além disso, a análise por necropsia constatou palidez excessiva em todos os fígados analisados, corroborando com os dados de SHIMADA (2015).

Das 51 amostras inoculadas em tubos de ensaio contendo meio BHI estéril, 35 apresentaram crescimento bacteriano positivo, representando uma prevalência de 69%. NASCIMENTO et al. (2014) também realizaram análises bacteriológicas, a partir de fragmentos de órgãos internos, em 74 exemplares de *R. canadum*, verificando prevalências de crescimento positivo na ordem de 96%.

Do total de amostras positivas, 29 foram encaminhadas ao Department of Microbiology da Oregon State University para identificação através de PCR conforme a Tabela 1.

O resultado da identificação molecular das bactérias indicou que 97% das amostras analisadas foram positivas para *P. damsela*, havendo a presença de ambas as subespécies. A presença de *P. damsela* subsp. *damsela* em proporções superiores a 30% das amostras analisadas é especialmente preocupante, tendo em vista o potencial zoonótico desta subespécie.

Os dados apresentados neste trabalho evidenciaram a relevância da fotobacteriose como um importante entrave ao cultivo do Bijupirá. Além disso, os elevados valores de prevalência e a presença deste patógeno nas amostras, coletadas em diferentes locais da costa dos estados da região Sudeste, demonstram a necessidade da adoção de medidas sanitárias, notadamente a utilização de vacinas específicas para *P. damsela*.

Tabela 1: Identificação com base nos primers CAR da região 16S e UreC das amostras de DNA obtidas de isolados de fígado de *Rachycentron canadum* (n = 29) coletados na costa sudeste do Brasil.

Amostra	16S CAR	UreC	ID
1	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
2	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
3	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
4	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
5	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
6	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
7	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>
8	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
9	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
10	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
11	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>
12	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
13	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
14	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
15	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
16	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>
17	-	-	Não identificada
18	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
19	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>
20	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
21	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>
22	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
23	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
24	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>
25	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>
26	+	-	<i>P. damsela</i> subsp. <i>piscida</i>
27	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>
28	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>
29	+	+	<i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>

REFERÊNCIAS

- ARIJO, S. RICO, R.; CHABRILLON, M.; DIAZ-ROSALES, P.; MARTÍNEZ-MANZANARES, E.; BALEBONA M.C.; MAGARIÑOS, B.; TORANZO, A.E.; MORIÑIGO, M.A. Effectiveness of a divalent vaccine for sole, *Solea senegalensis* (Kaup), against *Vibrio harveyi* and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. **Journal of Fish Diseases**, v. 28, n. 1, p. 33–8, 2005.
- ASATO, J.; KANAYA, F. Fatal Infection of the Hand Due to *Photobacterium damsela*: A Case Report. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 100–101, 2004.
- AUSTIN, B. Vibrios as causal agents of zoonoses. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 3-4, p. 310–7, 2010.
- AUSTIN, B.; AUSTIN, D. A. **Bacterial Fish Pathogens**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007.
- CAVALLI, R. O.; HAMILTON, S. Piscicultura marinha no Brasil com ênfase na produção do beijupirá. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Suplemento**, v. 6, p. 64–69, 2009.
- FIGUEIREDO, H.C.P.; LEAL, C.A.G.; COSTA, F.A.A. . Fotobacteriose em bijupirá cultivado: uma velha doença em uma produção nova. **Revista Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro - RJ, p. 30 - 35, 2011.
- GRAVNINGEN, K.; SAKAI, M.; MISHIBA, T.; FUJIMOTO, T. The efficacy and safety of an oil-based vaccine against *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*): a field study. **Fish & shellfish immunology**, v. 24, n. 5, p. 523–9, 2008.
- HANIF, A.; BAKOPOULOS, V.; LEONARDOS, I.; DIMITRIADIS, G. J. The effect of sea bream (*Sparus aurata*) broodstock and larval vaccination on the susceptibility by *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* and on the humoral immune parameters. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 19, n. 4, p. 345–61, 2005.

HO, L.-P.; HAN-YOU LIN, J.; LIU, H. C.; CHEN, H. E.; CHEN, T. Y.; YANG, H. L. Identification of antigens for the development of a subunit vaccine against *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 30, n. 1, p. 412–9, 2011.

HO, L.-P.; CHANG, C. J.; LIU, H. C.; YANG, H. L.; LIN, J. Y. Evaluating the protective efficacy of antigen combinations against *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* infections in cobia, *Rachycentron canadum* L. **Journal of Fish Diseases**, v. 37, n. 1, p. 51–62, 2014.

HUNDENBORN, J.; THURIG, S.; KOMMERELL, M.; HAAG, H.; NOLTE, O. Severe Wound Infection with *Photobacterium damsela* ssp. *damsela* and *Vibrio harveyi*, following a Laceration Injury in Marine Environment: A Case Report and Review of the Literature. **Case**

KORUN, J.; TIMUR, G. The first pasteurellosis case in cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) at low marine water temperatures in Turkey. **The Israeli Journal of Aquaculture**, v. 57, p. 197–206, 2005.

LIAO, I. C.; HUANG, T. S.; TSAI, W. S.; HSUEH, C. M.; CHANG, S. L.; LEAÑO, E. M. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Fisheries Research**, v. 237, p. 155 – 165, 2004.

LIN, J. H. Y.; CHEN, T. Y.; CHEN, M. S.; CHEN, H. E.; CHOU, R. L.; CHEN, T. I.; SU, M.S.; YANG, H. L. Vaccination with three inactivated pathogens of cobia (*Rachycentron canadum*) stimulates protective immunity. **Aquaculture**, v. 255, p. 125–132, 2006.

LOPEZ, C.; RAJAN, P.R.; LIN, J.H.-Y.; YANG, H.-L. Disease outbreak in sea farmed cobia, *Rachycentron canadum* associated with *Vibrio* spp., *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida*, monogenean and myxosporean parasites. **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists**, v. 23, p. 206–211, 2002.

LOVE, M.; FISHER, D.T.; HOSE, J.E.; FARMER, J.J.; HICKMAN, F.W.; FANNING, G.R. *Vibrio damsela*, a marine bacterium, causes skin ulcers on the damselfish *Chromis*. **Science**, v. 214, p. 1139–40, 1981.

- NASCIMENTO, D. L.; BARROS, C.N.; SILVA, A.D.R.; GUIMARÃES, J.M.; PEDROSA, V.F.; MENDES, E.S. Bactérias potencialmente patogênicas isoladas de beijupirá (*Rachycentron canadum*) cultivadas em sistema offshore. **Medicina Veterinária**, v. 8, p. 12-21, 2014.
- OSORIO, C. R.; TORANZO, A. E.; ROMALDE, J. L.; BARJA, J. L. Multiplex PCR assay for ureC and 16S rRNA genes clearly discriminates between both subspecies of *Photobacterium damsela*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 40, n. 3, p. 177–83, 20 abr. 2000.
- ROBERTS, R. J. **Fish Pathology**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2012.
- ROMALDE, J. L. *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*: an integrated view of a bacterial fish pathogen. **International Microbiology: the official journal of the Spanish Society for Microbiology**, v. 5, p. 3–9, 2002
- SHIMADA, M. T. **Pasteurelose em juvenis de cobias (*Rachycentron canadum*) criados em tanques-rede no litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil**. 2015. 61 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2015
- SNIESZKO S.F.; BULLOCK, G. L.; HOLLIS, E.; BOONE, J. G. *Pasteurella* sp. from an epizootic of white perch (*Roccus americanus*) in Chesapeake Bay tidewater areas. **Journal of Bacteriology**, v 88, p.1814–1815, 1964.
- TUNG, M. C.; CHANG, L. T.; TSAI, S. S.; WANG, D. H. Mass mortality associated with *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* in sea-cage cultured cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1776) in southern Taiwan. **FA COA Aquaculture Series**, (1), 133-145, 2000.

CAPÍTULO 3

Intensa infestação parasitária no peixe ornamental marinho *Anisotremus virginicus*

Eduardo Luiz Tavares Gonçalves⁽¹⁾; Eduardo Gomes Sanches⁽²⁾;
Maurício Laterça Martins⁽¹⁾ e Mônica Yumi Tsuzuki⁽³⁾

⁽¹⁾ Laboratório AQUOS - Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Admar Gonzaga 1346, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil. - eltgoncalves@gmail.com, mauricio.martins@ufsc.br

⁽²⁾ Pesquisador Científico do Instituto de Pesca, Estrada Professor Joaquim Lauro Monte Claro 2.275, Praia do Itaguá, Ubatuba, SP, Brasil - esanches@pesca.sp.gov.br

⁽³⁾ Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Servidão dos Coroas S/N, Barra da Lagoa, Florianópolis, SC, Brasil. - monica.tsuzuki@ufsc.br

Resumo: A salema, *Anisotremus virginicus*, é uma representante da família Haemulidae, tipicamente encontrada em ambientes recifais e que apresenta potencial como espécie ornamental. Além disso, sua frequente associação com estruturas artificiais proporciona-lhe importante papel ecológico. Este artigo apresenta índices parasitológicos, hematológicos e de fator de condição relativo obtidos de animais capturados na costa sudeste do Brasil. Todos os animais apresentaram grande diversidade parasitária, com riqueza parasitária média de $3,53 \pm 2,03$, e valores particularmente elevados de parasitismo por *Mexicana anisotremum*, com intensidade média de $602,0 \pm 368,5$. Os espécimes de *Mexicana anisotremum* apresentaram distribuição agregada nos microhabitats branquiais, demonstrando preferência pela base das lamelas primárias. O valor médio de hematócrito foi $30,26 \pm 8,72$ % e da contagem de eritrócitos foi $4,28 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1} \pm 1,31$. Apesar da intensa carga parasitária, os animais não apresentaram sinais clínicos de doença. Este estudo sugere o possível uso de *A. virginicus* como espécie alvo para monitoramento de ecossistemas marinhos utilizando parasitos como bioindicadores.

Termos para indexação: Piscicultura marinha, Sanidade animal, Salema, Bioindicadores, Microhabitat.

Abstract: Porkfish, *Anisotremus virginicus*, is a representative of the Haemulidae family, typically found in coral reefs, that shows potential as an ornamental species. Moreover, its frequent association with fish aggregating devices (FADs) grants it an important ecological role. This paper presents parasitological, hematological and condition indexes from fish obtained in the southeast coast of Brazil. All fish showed high parasite diversity, with mean parasite richness of 3.53 ± 2.03 , and particularly high parasitic burden by *Mexicana anisotremum*, with mean intensity of 602.0 ± 368.5 . *Mexicana anisotremum* specimens showed aggregated pattern of distribution among gill microhabitats, manifesting preference for base of primary lamellae. Mean hematocrit value was 30.26 ± 8.72 % and mean red blood cells count was $4.28 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1} \pm 1.31$. Despite high parasitic burden, fish showed no clinical signs of disease. This study suggests the possible use of *A. virginicus* as host species for monitoring marine ecosystems using parasites as biological indicators.

Index terms: Marine fish culture, Animal health, Porkfish, Biological Indicators, Microhabitat.

INTRODUÇÃO

Anisotremus virginicus (Linnaeus, 1758), também conhecido como salema ou roncador listrado, é um representante da família Haemulidae (Actinopterygii: Perciformes), que por sua vez engloba várias espécies de peixes com importantes papéis ecológicos.

A salema está distribuída por todo o Caribe e pela costa sul americana até o Brasil, englobando ainda Bermuda, Flórida e as porções leste e sul do Golfo do México (SMITH 1997; RAY, ROBINS, 2016). Ela tipicamente habita recifes de corais e é uma espécie importante no mercado de peixes marinhos ornamentais, sendo comumente encontrada em aquários públicos devido à sua coloração listrada e seu comportamento de formar cardumes.

É uma espécie intensivamente explorada na Flórida (BRUCKNER, 2005) e, apesar de ser considerada moderadamente vulnerável (CHEUNG, PITCHER, PAULY, 2005), a contínua perda do ambiente de manguezais ao redor do mundo pode impactar significativamente a biomassa de sua comunidade (MUMBY, 2004). Além disso, no mercado da aquariofilia a salema é comercializada principalmente em sua fase juvenil, tanto devido ao seu tamanho e distinto padrão de coloração, quanto ao seu comportamento de limpeza (SAZIMA et al., 2010), o que coloca ainda mais pressão na manutenção dos estoques naturais.

Com a crescente conscientização da aquicultura ornamental marinha como uma alternativa à captura de peixes selvagens nos últimos anos, esta espécie tem ganhado atenção como candidata para cultivo, apresentando resultados promissores (GOPAKUMAR, 2004; CASSIANO et al., 2012; CASSIANO, BARDEN, 2014).

Para que o cultivo de uma espécie possa se desenvolver adequadamente é mandatório investigar uma variedade de aspectos associados à sua produção. Entre eles, o conhecimento da fauna parasitária e outros aspectos sanitários são fundamentais para um desenvolvimento sustentável.

Patógenos representam importante fator em uma piscicultura, tendo em vista que condições desequilibradas de cultivo podem resultar em crescimento reduzido, mortalidades e perdas econômicas. Entretanto, em alguns casos os patógenos podem servir como aliados, uma vez que parasitos de peixes podem ser utilizados como indicadores biológicos da saúde ambiental, seja por meio da análise de biomarcadores toxicológicos ou através do estudo de suas interações ecológicas (MACKENZIE; ABAUNZA, 1998; MARCOGLIESE, 2005).

O objetivo deste estudo foi avaliar a fauna parasitária, parâmetros hematológicos e o fator de condição em salemas da costa sudeste do Brasil no intuito de sugerir seu uso como bioindicador ambiental.

MATERIAL E MÉTODOS

Entre maio de 2014 e fevereiro de 2015, dezessete espécimes de *A. virginicus* foram coletados com armadilhas na costa sudeste do Brasil (23°27' S 45°02' W). Os peixes foram anestesiados com uma solução de eugenol (75 mg L⁻¹), submetidos à uma biometria e em seguida foram coletadas amostras de sangue por meio de punção da veia caudal utilizando uma seringa contendo uma gota de solução de EDTA 10%. Os espécimes foram então eutanasiados para posterior análise parasitológica, de acordo com os procedimentos regulamentados na Comissão de Ética na Utilização de Animais.

As brânquias foram removidas e fixadas em solução de formalina 10%, raspadas e analisadas sob estereomicroscópio para detecção de parasitos. O trato gastrointestinal dos animais também foi removido e fixado em formalina 10% para análise posterior. O fígado de cada espécime foi removido e pesado para determinação do índice hematossomático (IHS) e o fator de condição relativo (Kn) foi calculado de acordo com Le Cren (1951).

As amostras de sangue foram utilizadas para determinação do hematócrito (GOLDENFARB et al., 1971), leucócrito e contagem de eritrócitos utilizando uma câmara de Neubauer (RANZANI-PAIVA et al., 2013).

Os índices parasitológicos foram calculados de acordo com Bush et al. (1997) e os parasitos foram montados em lâmina com meio de Hoyer para identificação. Todos os dados são apresentados no formato de média \pm desvio padrão (mínimo – máximo).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os peixes tinham comprimento total (L) de $19,81 \pm 2,53$ cm (14,6 – 23,4 cm) e peso (W) de $152,35 \pm 55,98$ g (57,04 – 247,3 g). A relação peso-comprimento foi descrita pela equação $W = 0,0168 L^{3,0346}$, com um coeficiente de determinação (R²) de 0,95 (Figura 1). Os espécimes coletados apresentaram fator de condição relativo médio de $0,95 \pm 0,10$ (0,81 – 1,2) e índice hepatossomático de $1,17 \pm 0,35$ (0,77 -1,83).

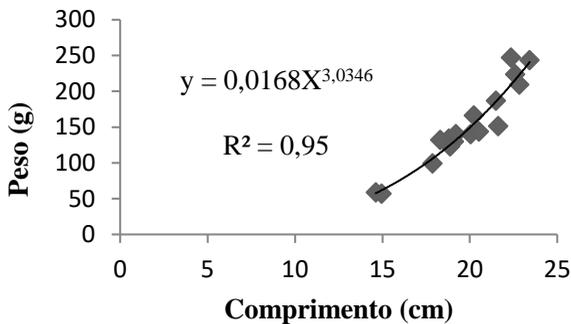


Figura 1: Relação peso-comprimento de exemplares de salemas *Anisotremus virginicus* (n = 17) coletados na costa sudeste do Brasil (23°27' S 45°02' W).

Todos os peixes apresentaram elevadas cargas parasitárias com riqueza parasitária média de $3,53 \pm 2,03$ (1-8). A análise parasitológica das brânquias e da superfície corporal (Tabela 1) revelaram parasitismo por duas espécies de Monogenea da subclasse Monopisthocotylea, duas espécies de Monogenea da subclasse Polyopisthocotylea e uma espécie de Copepoda.

A prevalência de parasitismo por Monogenea nas brânquias foi de 100%, com as seguintes espécies sendo identificadas: *Mexicana anisotremum* Cezar, Paschoal & Luque, 2012, *Microcotyle* sp. and *Choricotyle* sp. Os copépodos parasitos apresentaram uma taxa de prevalência nas brânquias de 35%, com uma única espécie de *Hatschekia* sp. sendo encontrada.

A espécie de Monogenea mais prevalente foi a *Mexicana anisotremum*, com intensidades de infestação superiores a 1.200 parasitos em uma única brânquia e mais de 400 em um único arco branquial. *M. anisotremum* exibindo um padrão agregado de distribuição dentre os microhabitats branquiais, demonstrando preferência pela base das lamelas primárias (Figura 2).

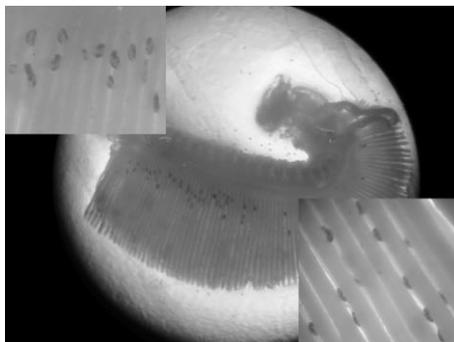


Figura 2: *Mexicana anisotremum* exibindo padrão agregado de distribuição dentre os microhabitats branquiais de salemas *Anisotremus virginicus* (n = 17) coletados na costa sudeste do Brasil. Foto: Eduardo Luiz Tavares Gonçalves.

Tabela 1: Análise parasitológica das brânquias e superfície corporal de exemplares de salemas *Anisotremus virginicus* (n = 17) coletados na costa sudeste do Brasil.

Grupo de parasito	Espécie	Local de infestação	PP (%)	IM ± DP	Mín - Máx
Monogenea (Monopisthocotylea)	<i>Mexicana anisotremum</i>	Brânquias	100	602,0 ± 368,5	114 - 1210
	<i>Neobenedeni a melleni</i>	Superfície corporal	23	22,2 ± 32,5	1 - 76
Monogenea (Polyopisthocotylea)	<i>Microcotyle</i> sp.	Brânquias	6	UE	UE
	<i>Choricotyle</i> sp.	Brânquias	6	UE	UE
Crustacea (Copepoda)	<i>Hatschekia</i> sp.	Brânquias	35	9,5 ± 8,46	2 - 25

PP = Prevalência; IM = Intensidade média; DP = Desvio padrão; Mín = Mínimo; Máx = Máximo; UE = Único espécime

Duas espécies de Monogenea da subclasse Polyopisthocotylea foram encontrados em coocorrência com *M. anisotremum* nas brânquias de *A. virginicus*, um único exemplar de *Microcotyle* sp. foi encontrado nas lamelas branquiais, enquanto um único exemplar de *Choricotyle* sp. foi encontrado próximo aos rastros branquiais.

O copépode *Hatschekia* sp. foi encontrado firmemente grudado às lamelas branquiais de seis espécimes de salema, perfazendo uma taxa de prevalência de 35% e uma intensidade média de $9,50 \pm 8,46$ (2 – 25). Não foi verificado nenhum padrão específico de distribuição.

Espécimes de *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) foram encontrados na superfície corporal de quatro espécimes de salema (taxa de prevalência de 23%), com uma intensidade média de $22,25 \pm 32,55$ (1 – 76). Alguns *N. melleni* foram incidentalmente encontrados nas brânquias.

A análise parasitológica gastrointestinal (Tabela 2) revelou parasitismo por Digenea, Nematoda, Monogenea e Cestoda.

Espécimes de Digenea foram encontrados com uma taxa de prevalência de 70% e intensidade média de $6,25 \pm 7,24$ (1 – 20). Em dois espécimes de salema (taxa de prevalência de 12%) foram encontrados em co-ocorrência cestoides, com intensidade média de $1,5 \pm 0,7$ (1 – 2), e nematoides, com apenas um parasito em cada hospedeiro.

Um único exemplar de uma espécie de Monogenea não relatada previamente foi encontrado parasitando o trato gastrointestinal, mas infelizmente não possível identificá-lo.

Tabela 2: Análise parasitológica do trato gastrointestinal de exemplares de salema *Anisotremus virginicus* (n = 17) coletados na costa sudeste do Brasil (23°27' S 45°02' W).

Grupo de parasito	PP (%)	IM \pm DP	Mín - Máx
Digenea	70	$6,2 \pm 7,2$	1 - 76
Monogenea	6	UE	UE
Nematoda	12	1*	1
Cestoda	12	$1,5 \pm 0,7$	1 - 2

PP = Prevalência; IM = Intensidade média; DP = Desvio padrão; Mín = Mínimo; Máx = Máximo; UE = Único espécime; * = sem desvio padrão.

A análise de correlação não mostrou nenhuma relação significativa entre a intensidade parasitária e o comprimento, peso ou fator de condição do hospedeiro.

O valor médio de hematócrito foi $30,26 \pm 8,72$ % (20 – 50,5) e de leucócrito $1,5 \pm 0,53$ % (1 – 2). A contagem de eritrócitos apresentou valor médio de $4,28 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1} \pm 1,31$ (3.340.000 – 6.550.000).

De maneira geral, os peixes apresentaram condições normais de saúde, sem qualquer sinal clínico de doença, apesar da intensa carga parasitária. O fator de condição relativo ficou dentro da faixa esperada e os valores dos parâmetros hematológicos foram similares aos verificados por Wilhelm Filho et al. (1992), em outros exemplares de *A. virginicus*, e semelhantes aos valores encontrados em outros teleósteos marinhos (WILHELM FILHO et al., 1992; HRUBEC; SMITH, 2011).

Paschoal et al. (2015), revisando metazoários associados à peixes da família Haemulidae das regiões Neoártica e Neotropical, encontraram 33 diferentes espécies de parasitos relatadas em *A. virginicus*, indicando que a salema possui uma diversidade parasitária particularmente alta.

A análise da coleção parasitária pode ser utilizada como indicador biológico de saúde ambiental (MACKENZIE; ABAUNZA, 1998; MARCOGLIESE, 2005), especialmente em hospedeiros com importância ecológica, tais como representantes da família Haemulidae devido à sua forte associação com ambientes recifais e de mangue, bem como estruturas artificiais (MUMBY, 2004; DE CARVALHO et al., 2015).

Instalações aquícolas situadas em ambiente marinho tendem a funcionar como dispositivos agregadores de peixes (DAPs) para ictiofauna selvagem, atraindo planctívoros, pastadores epifaunais, microcarnívoros e seus predadores (COSTA-PIERCE, BRIDGER 2002; DEMPSTER et al., 2002; GODOY, ALMEIDA, ZALMON, 2002; BENETTI et al., 2006; ÖZGÜ, ANGEL, 2013; DE CARVALHO et al., 2015). Ademais, Hackradt et al. (2011) e De Carvalho et al. (2015) verificaram que *A. virginicus* é uma das espécies mais frequentemente associadas à estruturas artificiais na costa sudeste do Brasil.

A grande diversidade de espécies parasitas, elevada carga parasitária e importante papel ecológico, fazem da salema uma espécie adequada para o monitoramento de ecossistemas marinhos utilizando parasitas como bioindicadores. Além disso, o fato de *A. virginicus* ser hospedeiro de espécies de parasitos generalistas com impacto significativo em peixes cultivados, tais como *N. melleni* and *Hatschekia* sp., e sua forte associação com estruturas artificiais, fazem desta espécie importante indicador do impacto da aquicultura em ambientes marinhos.

CONCLUSÃO

Com trinta e três espécies de parasitos de diferentes táxons, já reportados, *A. virginicus* demonstra ser uma espécie particularmente suscetível ao parasitismo. Elevados valores de prevalência e intensidade parasitária, como os encontrados neste estudo, podem apresentar uma ameaça ao cultivo desta espécie. Entretanto, estes dados também podem sugerir, também, a possível utilização de *A. virginicus* como espécie hospedeira alvo para monitoramento de ambientes marinhos utilizando parasitos como indicadores biológicos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de Doutorado de E.L.T. Gonçalves e pelo financiamento de M. Y. Tsuzuki (CNPq 474081/2012-5) e M. L. Martins (CNPq 305869/2014-0).

REFERÊNCIAS

- BENETTI, D. et al. Can offshore aquaculture of carnivorous fish be sustainable? Case studies from the Caribbean. **World Aquaculture**, p. 44–47, 2006.
- BRUCKNER, A.W. The importance of ornamental reef fish trade in the wider Caribbean. **International Journal of Tropical Biology and Conservation**, v. 53, n. 1, p. 127–138, 2005.
- BUSH, A.O. et al. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of parasitology**, p. 575-583, 1997.
- CASSIANO, E.J.; BARDEN, K. P. Candidate Species for Marine Ornamental Aquaculture : **University of Florida**, p. 1–5, 2014.
- CHEUNG, W. WL; PITCHER, T.J.; PAULY, D. A fuzzy logic expert system to estimate intrinsic extinction vulnerabilities of marine fishes to fishing. **Biological Conservation**, v. 124, n. 1, p. 97-111, 2005.

COSTA-PIERCE, B.A. et al. The role of marine aquaculture facilities as habitats and ecosystems. **Responsible Marine Aquaculture**. CABI Publishing, Wallingford, p. 105-144, 2002.

DE CARVALHO, L.L. et al. Assessment of rocky reef fish assemblages close to seaweed farming. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 2, p. 481–493, 2015.

DEMPSTER, T. et al. Attraction of wild fish to sea-cage fish farms in the south-western Mediterranean Sea: Spatial and short-term temporal variability. **Marine Ecology Progress Series**, v. 242, n. 1, p. 237–252, 2002.

GODOY, E.; ALMEIDA, T.; ZALMON, I. Fish assemblages and environmental variables on an artificial reef north of Rio de Janeiro, Brazil. **ICES Journal of Marine Science**, v. 59, n. April 1996, p. S138–S143, 2002.

GOLDENFARB, P.B. et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, n. 1, p. 35-39, 1971.

GOPAKUMAR, G. Marine ornamental fish culture status, constraints and potential. **Proceedings of Ocean Life Food & Medicine Expo**, p. 347–359, 2004.

LE CREN, E.D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). **Journal of Animal Ecology**, p. 201-219, 1951.

MACKENZIE, K.; ABAUNZA, P. Parasites as biological tags for stock discrimination of marine fish: A guide to procedures and methods. **Fisheries Research**, v. 38, n. 1, p. 45–56, 1998.

MARCOGLIESE, D.J. Parasites of the superorganism: Are they indicators of ecosystem health? **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 7, p. 705–716, 2005.

MUMBY, P.J. et al. Mangroves enhance the biomass of coral reef fish communities in the Caribbean. **Nature**, v. 427, n. 6974, p. 533-536, 2004.

ÖZGÜ, A.; ANGEL, D. Wild fish aggregations around fish farms in the Gulf of Aqaba, Red Sea: Implications for fisheries management and conservation. **Aquaculture Environment Interactions**, v. 4, n. 2, p. 135–145, 2013.

RANZANI-PAIVA, M.J.T. et al. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Editora da Universidade Estadual de Maringá-EDUEM, 2013.

RAY, C.; ROBINS, C.R.. **A field guide to Atlantic coast fishes: North America**. Houghton Mifflin Harcourt, 2016.

SAZIMA, C. et al. What makes a species central in a cleaning mutualism network? **Oikos**, v. 119, n. 8, p. 1319–1325, 2010.

SMITH, C.L., 1997. **National Audubon Society field guide to tropical marine fishes of the Caribbean, the Gulf of Mexico, Florida, the Bahamas, and Bermuda**. Alfred A. Knopf, Inc., New York. 720 p.

HRUBEC, T.C.; SMITH, S.A. Hematology of Fishes. *In*: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Ed.). **Schalm's veterinary hematology**. John Wiley & Sons, 2011.

WILHELM FILHO, D. et al. Comparative hematology in marine fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 102, n. 2, p. 311-321, 1992.

CAPÍTULO 4

Causas de mortalidade de *Gramma brasiliensis* selvagens durante a formação de casais em cativeiro

Eduardo Luiz Tavares Gonçalves⁽¹⁾; Daniela Gonçalves Soares⁽²⁾ e
Mônica Yumi Tsuzuki⁽²⁾

⁽¹⁾ Laboratório AQUOS - Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Admar Gonzaga 1346, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil. - eltgoncalves@gmail.com

⁽²⁾ Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Departamento de Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Servidão dos Coroas S/N, Barra da Lagoa, Florianópolis, SC, Brasil. - monica.tsuzuki@ufsc.br

Resumo: *Gramma brasiliensis*, único representante da família Grammatidae no Brasil, é uma espécie de peixe ornamental marinho com grande potencial no mercado da aquariofilia, mas que foi considerada como ameaçada devido à pressão de sua captura nos estoques naturais. Apesar de congênera do *Gramma loreto*, cujo cultivo em cativeiro já está consolidado, pouco ainda se sabe sobre as condições para reprodução em cativeiro do *G. brasiliensis*. Neste contexto, realizou-se este estudo com o intuito de verificar a ocorrência de mortalidades e enfermidades, bem como proporção sexual e condição geral de saúde de animais mantidos em cativeiros. Ao longo de um período de 21 meses, foram analisados 46 espécimes mantidos em sistema de recirculação com o objetivo de determinar os seguintes parâmetros: fauna parasitária; proporção sexual; relação peso-comprimento; fator de condição relativo (Kn); índice hepatossomático (IHS). A relação peso-comprimento foi descrita pela seguinte equação $\text{Peso Total} = 0,0249 \text{ Comprimento Padrão}^{3,1491}$ e os peixes apresentaram Kn médio de $1,01 \pm 0,10$, índice hepatossomático médio de $1,57 \pm 1,00$ e proporção sexual de 3,5 fêmeas por macho. A análise parasitológica evidenciou a presença de *Amyloodinium ocellatum* nas brânquias de três animais e agressões territoriais foram a principal causa de mortalidade identificada, de modo que o comportamento territorialista e agressivo da espécie requer estratégias de minimização de conflitos para o estabelecimento da reprodução de *G. brasiliensis*.

Termos para indexação: Piscicultura marinha, Aquicultura, Ornamental, Grammatidae, Sanidade animal.

Abstract: *Gramma brasiliensis*, sole representative of the Grammatidae family in Brazil, is a marine ornamental fish species with great potential on the aquarium trade, but considered threatened due to intense capture of wild fish populations. Despite being congeneric to *Gramma loreto*, whose cultivation is well consolidated, little is known about conditions for captive breeding of *G. brasiliensis*. In this context, this study aimed to verify the occurrence of diseases and mortalities, as well as sex ratio and general health conditions of animals kept in captivity. On the course of 21 months, forty-six specimens kept in a recirculating aquaculture system were analyzed with the objective of determining the following parameters: parasite fauna; sex ratio; length-weight relationship; relative condition factor (Kn); hepatosomatic index (HIS). Length-weight relationship was described by the equation Total Weight = 0.0249 Standard Length^{3.1491} and fish showed mean Kn of 1.01 ± 0.10 , mean hepatosomatic index of 1.57 ± 1.00 and sex ratio of 3.5 females per male. Parasitological analysis showed presence of *Amyloodinium ocellatum* on the gills of three specimens and territorial aggressions were the main identified cause of mortalities, thus indicating that the aggressive and territorial behavior of the species requires conflict minimization strategies in order for an adequate breeding of *G. brasiliensis*.

Index terms: Marine fish culture, Animal health, Aquaculture, Ornamental, Grammatidae

O desenvolvimento de protocolos para o cultivo de espécies de peixes ornamentais marinhos, além de suprir o mercado da aquariofilia com animais produzidos em cativeiro, pode promover mecanismos de preservação mais realistas que a simples restrição à pesca (TLUSTY, 2002). Desta forma, a piscicultura ornamental marinha pode contribuir, também, no âmbito socioambiental, reduzindo o extrativismo desordenado de espécies nativas, e servindo como uma excelente alternativa de renda para pequenos produtores (POMEROY; PARKS; BALBOA, 2006).

Neste contexto, uma espécie de especial relevância é o *Gramma brasiliensis*, único representante da família Grammatidae no Brasil, que foi considerado como ameaçado de extinção devido à intensa pressão de sua captura como peixe ornamental (MONTEIRO-NETO et al., 2003; MMA, 2004; PINHEIRO; JOYEUX; MARTINS, 2010). Atualmente é classificado como vulnerável (elevado risco de extinção) (MMA, 2014).

Gramma brasiliensis é uma espécie bastante apreciada na aquariofilia (MONTEIRO-NETO et al., 2003) devido à sua coloração marcante, sendo bastante similar ao *Gramma loreto*, espécie já consolidada no mercado mundial de aquariofilia (LANGO-REYNOSO et al., 2012) e cuja produção em cativeiro é bem sucedida (GOPAKUMAR, 2006; LEIS et al., 2012).

Assim como seu congêneres *G. loreto*, *G. brasiliensis* costuma ser encontrado em ambientes costeiros, podendo apresentar comportamento solitário ou vivendo em pequenos grupos que habitam pequenas cavernas ou bordas rochosas, frequentemente nadando de cabeça para baixo em relação ao teto (SAZIMA et al., 1998). Possui hábito carnívoro, se alimentado de organismos planctônicos e ocasionalmente pode ser observado exibindo comportamento de limpeza com outras espécies de peixes.

A relação peso-comprimento, amplamente utilizada no estudo de recursos pesqueiros (FROESE, 2006), possibilita estimar os valores esperados de peso para indivíduos de uma população em função de seus respectivos valores de comprimentos. É expressa por uma equação composta pelas variáveis peso e comprimento e por constantes estimadas através de uma regressão de potência (ou através de regressão linear da equação transformada) a partir dos dados de uma amostra.

Já o fator de condição relativo (K_n), descrito por Le Cren (1951), representa o grau de hígidez de um indivíduo e seu valor reflete as condições nutricionais recentes, sendo possível relacioná-lo às condições ambientais e de sanidade (VAZZOLER, 1996). Seu valor baseia-se no quociente entre o peso observado e o peso teoricamente estimado por

meio da relação peso-comprimento, dessa forma, um Kn menor que 1 indica um animal abaixo do peso esperado e vice-versa.

O índice hepatossomático, por sua vez, representa um valor relativo que indica o tamanho do fígado do animal e é obtido por meio do quociente entre o peso do fígado e o peso corporal. A grande capacidade de estocagem de glicogênio no fígado permite variações significativas de seu peso, que, por sua vez, podem ser percebidas por meio dos índices hepatossomáticos, que podem servir como indicadores de estágio reprodutivo (LAMBERT et al., 2004; QUEROL et al., 2002) ou de alguma condição patológica (AL-GHAIS, 2013).

Não existem relatos da reprodução em cativeiro do *G. brasiliensis* e qual sua forma de reprodução, ele não apresenta dimorfismo sexual, o que dificulta bastante o manejo na formação de casais. A espécie apresenta comportamento agressivo e territorialista, frequentemente resultando em brigas e mortalidade. Além disso, o conhecimento sobre a biologia e patologias desta espécie é notadamente escasso.

Dessa forma, realizou-se um estudo com o intuito de compreender melhor a ocorrência de mortalidades e enfermidades, bem como proporção sexual e condição geral de saúde dos animais.

No período entre março 2013 e dezembro de 2014, um total de 70 espécimes de *G. brasiliensis* foram coletado no litoral do estado da Bahia (Autorização coleta SISBIO/ ICMBio nº 35285). Após a captura, os animais foram embalados individualmente em sacos plásticos duplo contendo cerca de 1/3 de oxigênio e um volume de 300 mL de água salgada limpa e enviados para o Laboratório de Peixes Ornamentais Marinhos (LAPOM), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina. O período de transporte aéreo foi cerca de 36h em média.

Em seu recebimento no LAPOM, os peixes foram imersos em água doce por um intervalo entre 2 e 5 min, sendo, posteriormente, imersos em solução de formalina (150 ppm) durante 1 min e colocados em aquários de 40 L na sala de quarentena, onde permaneceram sob observação durante 20 dias. Após esse período, os animais foram transferidos para os aquários de manutenção com sistema fechado de recirculação de água (RAS) composto por um SUMP equipado com filtro mecânico (*bag* de 10 µm), biológico (Quartzite Glass Ista®), filtro esterilizador UV e *skimmer*. A salinidade da água do sistema foi mantida a 28 ‰, a temperatura controlada a 28 °C e o fotoperíodo foi de 14 h luz: 10 h escuro.

Durante esse período, a mortalidade dos animais foi observada e registrada, sendo cada animal morto fixado em formalina 10 % ou álcool 70%, para posterior análise.

Na análise *post-mortem*, os animais foram mensurados, pesados e submetidos à necropsia e posterior análise parasitológica. Durante a necropsia foi feita a avaliação das gônadas (LEITE et al., 2016) e o fígado dos animais foi removido e pesado em balança analítica. Na análise parasitológica as brânquias foram removidas e analisadas sob estereomicroscópio, sendo as prováveis causas de mortalidade estabelecidas com base na avaliação dos sinais clínicos e anamnese. A partir dos dados obtidos foram calculados o fator de condição relativo (Kn), de acordo com Le Cren (1951), e o índice hepatossomático (IH) dos animais (QUEROL et al., 2002).

No cálculo da relação peso-comprimento foi usada a equação $PT = a CP^b$, onde PT é o peso total em gramas e CP o comprimento padrão em centímetros, a e b são constantes estimadas através de regressão linear da equação transformada: $PT = \log a + b \times \log CP$. (FROESE, 2006).

Os dados foram analisados por meio de estatística descritiva e são apresentados da seguinte forma: média \pm desvio padrão (mínimo – máximo). Foi também utilizado o teste T de Student na comparação entre os valores de peso e comprimento para ambos os sexos.

Foram analisados 46 espécimes, com comprimento padrão (CP) médio de $5,67 \pm 1,29$ (3,2 - 8,6) e peso total (PT) médio de $4,22 \pm 3,03$ (0,48 - 11,92), que foram encontrados mortos ao longo do período de 21 meses. A relação peso-comprimento dos animais foi descrita pela equação $PT = 0,0249 CP^{3,1491}$ (Figura 1), que apresentou um coeficiente de determinação (R^2) = 0,985, ou seja, que foi capaz de explicar 98,5% da variação dos valores de peso. O valor de $b = 3,1491$ obtido na equação indica um incremento maior em peso do que em comprimento.

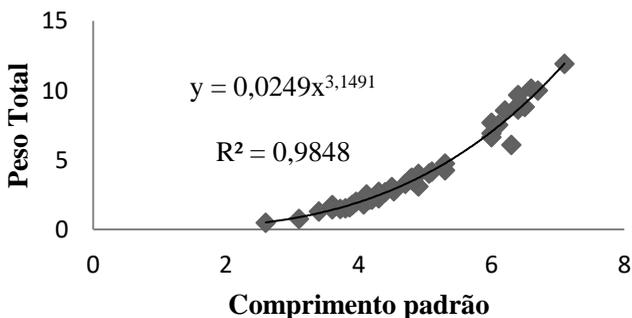


Figura 1: Relação peso-comprimento de *Gramma brasiliensis* (n = 46) selvagens mantidos em sistema de recirculação.

Os animais apresentaram um Kn médio de $1,01 \pm 0,10$ (0,75 - 1,25) e um índice hepatossomático médio de $1,57 \pm 1,00$ (0,3 - 6,5) (Figura 2). Os valores IHS encontram-se dentro dos valores normalmente relatados em espécies marinhas (LYE et al., 1997; MONTERO et al., 1999; PERES; OLIVA-TELES, 1999), com exceção de um único animal que apresentou IHS de 6,5, indicando uma hepatomegalia, possivelmente em decorrência de uma bacteriose não identificada. Ademais, os valores de Kn indicaram que os animais estavam dentro da faixa esperada de peso, corroborando com o indicativo de que os animais em geral apresentavam uma condição corporal saudável.

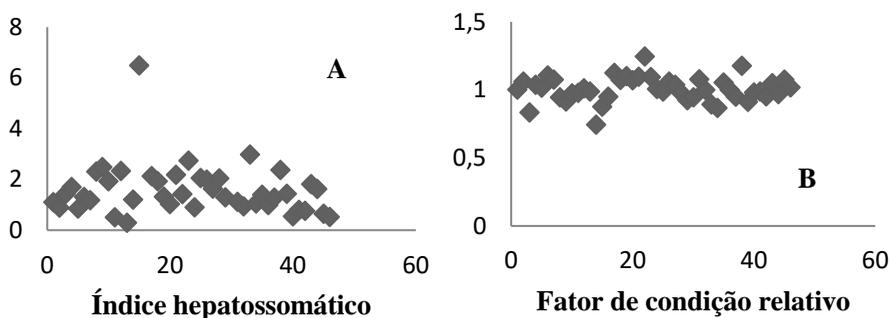


Figura 2: Gráfico de dispersão com valores de índice hepatossomático (A) e fator de condição relativo (B) de *Gramma brasiliensis* (n = 46) selvagens mantidos em sistema de recirculação.

Não foi possível determinar o sexo em 20% dos animais, entre os demais 25 eram fêmeas e 7 eram machos (Figura 3), perfazendo uma proporção de 3,5 fêmeas/macho, semelhante àquela descrita para *G. loreto* por Amador (1982). Não foi verificada diferença estatística para os valores de peso e comprimento entre machos e fêmeas, de forma que não foi possível estabelecer nenhuma relação entre o tamanho e o sexo dos animais.

A determinação sexual em peixes é um processo bastante flexível evolutivamente e ainda não totalmente compreendido (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002). Por isso, conforme indicam Leite et al.(2016) e Asoh e Shapiro (1997), representantes da família Grammatidae possuem

um sistema de determinação notadamente complexo, de forma que caracteres morfométricos talvez não sejam os melhores indicadores.

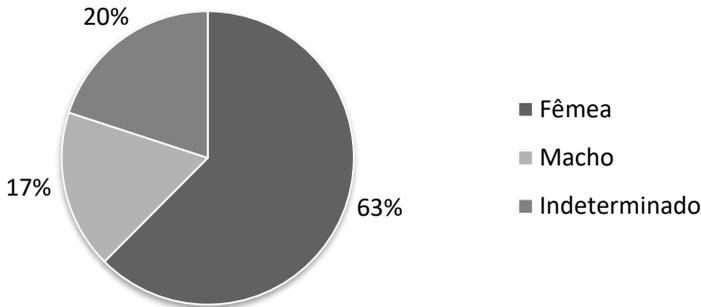


Figura 3: Gráfico de setores com a proporção de sexos de *Gramma brasiliensis* (n = 46) selvagens mantidos em sistema de recirculação.

A análise parasitológica evidenciou a presença de *Amyloodinium ocellatum* nas brânquias de 3 animais, entretanto, em baixas intensidades. A avaliação das causas de mortalidade (Figura 4) indicou que o estresse agudo derivado de brigas e agressões foram a principal causa de mortalidade identificada (37%). Apenas 11% dos animais apresentaram sinais clínicos de doença e 4% morreram por ressecamento em decorrência de fugas dos aquários. Não foi possível identificar as causas de mortalidade em 48% dos casos.

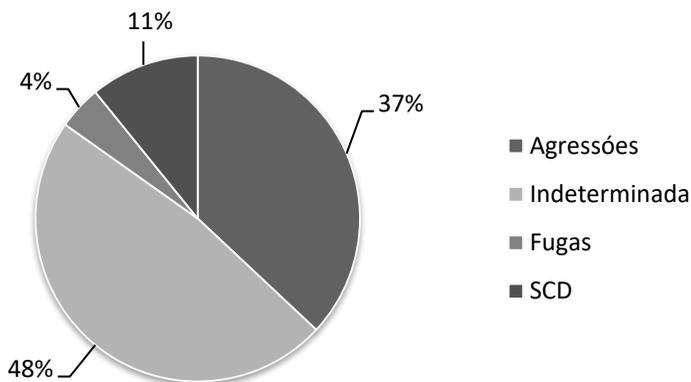


Figura 4: Gráfico de setores com as causas de mortalidade de *Gramma brasiliensis* (n = 46) selvagens mantidos em sistema de recirculação. SCD = sinais clínicos de doença

De um total de 70 peixes selvagens, oito pares foram formados após várias tentativas, sendo que algumas culminaram em brigas importantes e subsequentes mortalidades. A agressividade e comportamento territorialista continuam sendo importantes obstáculos no estabelecimento de um cultivo de *G. brasiliensis*, requerendo estratégias de minimização de conflitos. Estudos devem ser realizados com o intuito de verificar qual o processo de formação de pares e quais os melhores substratos para a definição do território dos peixes.

REFERÊNCIAS

AL-GHAIS, S.M. Acetylcholinesterase, glutathione and hepatosomatic index as potential biomarkers of sewage pollution and depuration in fish. **Marine Pollution Bulletin**, v. 74, n. 1, p. 183–186, 2013.

AMADOR, L.M. **Reproductive biology of the fairy basslet, Gramma loreto Poey**. Dissertação. Universidad of Puerto Rico, Mayagüez, 1982.

ASOH, K.; SHAPIRO, D.Y. Bisexual juvenile gonad and gonochorism in the fairy basslet, *Gramma loreto*. **Copeia**, p. 22-31, 1997.

BENETTI, D. et al. Can offshore aquaculture of carnivorous fish be sustainable? Case studies from the Caribbean. **World Aquaculture**, p. 44–47, 2006.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente - MMA. Instrução Normativa nº 005, de 21 de maio de 2004. Lista Nacional das Espécies de Invertebrados Aquáticos e Peixes Ameaçadas de Extinção. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 abr. 2004. 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente - MMA. Portarias nº 443, 444, 445, de 17 de dezembro de 2014. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Seção 1 (245): 110-130, Brasília, DF, 18 Dezembro 2014. 2014.

BRUCKNER, A.W. The importance of ornamental reef fish trade in the wider Caribbean. **International Journal of Tropical Biology and Conservation**, v. 53, n. 1, p. 127–138, 2005.

CASSIANO, E.J.; BARDEN, K.P. Candidate species for marine ornamental aquaculture : **University of Florida**, p. 1–5, 2014.

DE CARVALHO, L.L. et al. Assessment of rocky reef fish assemblages close to seaweed farming. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 2, p. 481–493, 2015.

DEMPSTER, T. et al. Attraction of wild fish to sea-cage fish farms in the south-western Mediterranean Sea: Spatial and short-term temporal variability. **Marine Ecology Progress Series**, v. 242, n. 1, p. 237–252, 2002.

DEVLIN, R.H.; NAGAHAMA, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: An overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture**, v. 208, n. 3–4, p. 191–364, 2002.

FROESE, R. Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 22, n. 4, p. 241-253, 2006.

GODOY, E.; ALMEIDA, T.; ZALMON, I. Fish assemblages and environmental variables on an artificial reef north of Rio de Janeiro, Brazil. **ICES Journal of Marine Science**, v. 59, n. April 1996, p. S138–S143, 2002.

GOPAKUMAR, G. Marine ornamental fish culture status, constraints and potential. **Proceedings of Ocean Life Food & Medicine Expo**, p. 347–359, 2004.

GOPAKUMAR, G. Culture of marine ornamental fishes with reference to production systems, feeding and nutrition. **International Seminar on Ornamental Fish Breeding, Farming and Trade**, v. 5–6, 2006.

LAMBERT, Y. et al. Using Environmental and Biological Indices as Proxies for Egg and Larval Production of Marine Fish. **Journal of Northwest Atlantic Fishery Science**, v. 33, p. 115–159, 2004.

LANGO-REYNOSO, F. et al. La acuariofilia de especies ornamentales marinas: un mercado de retos y oportunidades. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 40, n. 1, p. 12–21, 2012.

LE CREN, E.D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). **The Journal of Animal Ecology**, p. 201-219, 1951.

LEIS, J.M. et al. Development of morphology and swimming in larvae of a coral-reef fish, the royal gramma, *Gramma loreto* (Grammatidae: Teleostei). **Scientia Marina**, v. 76, n. 2, p. 281–288, 2012.

LEITE, J.R. et al. Rediscovering hermaphroditism in Grammatidae with the description of the testicular gland in Brazilian Basslet *Gramma brasiliensis*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 3, p. 743–749, 2016.

LYE, C.M. et al. Abnormalities in the reproductive health of flounder *Platichthys flesus* exposed to effluent from a sewage treatment works. **Marine Pollution Bulletin**, v. 34, n. 1, p. 34–41, 1997.

MACKENZIE, K.; ABAUNZA, P. Parasites as biological tags for stock discrimination of marine fish: A guide to procedures and methods. **Fisheries Research**, v. 38, n. 1, p. 45–56, 1998.

MARCOGLIESE, D.J. Parasites of the superorganism: Are they indicators of ecosystem health? **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 7, p. 705–716, 2005.

MONTEIRO-NETO, C. et al. Analysis of the marine ornamental fish trade at Ceara State, northeast Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 12, n. 6, p. 1287–1295, 2003.

MONTERO, D. et al. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 20, p. 53–60, 1999.

ÖZGÜ, A. .; ANGEL, D. Wild fish aggregations around fish farms in the Gulf of Aqaba, Red Sea: Implications for fisheries management and conservation. **Aquaculture Environment Interactions**, v. 4, n. 2, p. 135–145, 2013.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v. 179, p. 325–334, 1999.

PINHEIRO, H.T.; JOYEUX, J.C.; MARTINS, A.S. Reef fisheries and underwater surveys indicate overfishing of a Brazilian Coastal Island. **Natureza a Conservacao**, v. 8, n. 2, p. 151–159, 2010.

POMEROY, R.S.; PARKS, J.E.; BALBOA, C.M. Farming the reef: Is aquaculture a solution for reducing fishing pressure on coral reefs? **Marine Policy**, v. 30, n. 2, p. 111–130, 2006.

QUEROL, M.; QUEROL, E.; GOMES, N. Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricariidae), bacia do rio Uruguai médio, sul do Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 92, n. 3, p. 79–84, 2002.

SAZIMA, I.; GASPARINI, J.L.; MOURA, R.L. *Gramma brasiliensis*, a new basslet from the western South Atlantic (Perciformes: Grammatidae). **Aqua, Journal of Ichthyology and Aquatic Biology**, v. 3, n. 1, p. 4, 1998.

SAZIMA, C. et al. What makes a species central in a cleaning mutualism network? **Oikos**, v. 119, n. 8, p. 1319–1325, 2010.

TLUSTY, M. The benefits and risks of aquaculture production for the aquarium trade. **Aquaculture**, v. 205, p. 203–219, 2002.

VAZZOLER, A.E.A.M. 1996. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos**: teoria e prática. Nupélia, Maringá, 169 p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao propor estudar sobre a ictiopatologia marinha no Brasil, explicitarei a minha preocupação profissional e pessoal, dos últimos anos, sobre a defasagem existente entre o enorme potencial da piscicultura marinha no País, a baixa produção de pescados em cativeiro e a baixa produção científica sobre o assunto.

Durante o doutorado tive a oportunidade de trabalhar com mais de 10 espécies de peixes marinhos, contribuindo com dois trabalhos de conclusão de curso, sete resumos em congressos, um capítulo de livro e quatro artigos em revistas científicas. Porém, decidi aprofundar a compreensão sobre o assunto estudando três espécies de grande interesse e potencial comercial: *Rachycentron canadum*, *Anisotremus virginicus*, *Gramma brasiliensis*.

Para desenvolver este trabalho científico estabeleceu-se como objetivo geral: desenvolver estudos ictiopatológicos prospectivos, de modo a fornecer dados para subsidiar o desenvolvimento e aplicação de estratégias para controle sanitário aplicadas à piscicultura marinha no Brasil. Para isso, foram traçados como objetivos específicos: identificar e estudar os principais agentes etiológicos; estabelecer índices parasitológicos e hematológicos e; determinar condições associadas à manifestação de doenças por meio de anamnese.

Nesta pesquisa destacou-se a identificação da bactéria *Photobacterium damsela* como um importante agente etiológico de *R. canadum* cultivado na Região Sudeste do Brasil, bem como a discussão de estratégias de controle deste patógeno. Dada à importância econômica e sanitária de ambas as subespécies dessa bactéria, é mandatório que haja um melhor acompanhamento sanitário nos cultivos de *R. canadum*, em especial na detecção do patógeno com a utilização de técnicas adequadas de diagnóstico. Entre os métodos mais apropriados destacam-se: sistemas miniaturizados, kits comerciais de testes imunoenzimáticos e PCR multiplex dos genes 16S rRNA e ureC.

Além disso, a elevada prevalência e a presença deste patógeno nas amostras coletadas, em diferentes locais da costa dos estados da região Sudeste, demonstraram a necessidade da adoção de medidas sanitárias, notadamente a utilização de vacinas específicas para *P. damsela*.

Este trabalho também apresentou *A. virginicus* como uma potencial espécie hospedeira alvo para monitoramento de ambientes marinhos, utilizando parasitos como indicadores biológicos, devido à grande diversidade de espécies parasitas encontradas, elevada carga parasitária e importante papel ecológico. Ressalta-se que ele é hospedeiro

de espécies de parasitos generalistas com impacto significativo em peixes cultivados. Sua forte associação com estruturas artificiais faz desta espécie importante indicador do impacto da aquicultura em ambientes marinhos. Os resultados da pesquisa indicaram a necessidade de ampliação dos estudos com esta espécie, especialmente quando em associação às estruturas de cultivo no mar.

Esta tese apresentou, também, dados sobre *Gramma brasiliensis*, único representante da família Grammatidae no Brasil. Esta espécie de peixe ornamental marinho com grande potencial econômico no mercado da aquariofilia, mas que foi considerada como ameaçada devido à pressão de sua captura nos estoques naturais.

Durante esta pesquisa foram avaliadas as causas de mortalidade de *G. brasiliensis* selvagens durante a formação de casais em cativeiro. Foi possível concluir que o estresse agudo derivado de brigas e agressões foram a principal causa de mortalidade. Assim, recomenda-se a utilização de estratégias para a minimização de conflitos e de agressividade no comportamento territorialista, identificados como importantes obstáculos no cultivo desta espécie.

Por fim, é possível afirmar que este trabalho conseguiu fornecer dados para subsidiar o desenvolvimento de estratégias para controle sanitário das espécies estudadas, contribuindo para o desenvolvimento da piscicultura marinha nacional.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

ANDRADE, S.M.S.; MALTA, J.C.O.; FERRAZ, E. Fauna Parasitológica de Alevinos de Matrinhã *Brycon Cephalus* (Gunther, 1869) coletados nos rios Negro e Solimões, na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 31, n. 2, p. 263-273, 2001.

ARENDRT, M.; OLNEY, J.; LUCY, J. Stomach content analysis of cobia, *Rachycentron canadum*, from lower Chesapeake Bay. **Fishery Bulletin**, v. 99, p. 665–670, 2001.

ARTHUR, J.R.; LOM, J. Trichodinid protozoa (Ciliophora: Peritrichida) from freshwater fishes of Rybinsk Reservoir, USSR. **Journal of Eucaryotic Microbiology**, v. 31, n.1, p. 82-91, 1984.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D. A. **Bacterial Fish Pathogens**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007.

BARKER, D. E.; CONE, D. K.; BURT, M. D. B. *Trichodina murmanica* (Ciliophora) and *Gyrodactylus pleuronecti* (Monogenea) parasitizing hatchery-reared winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum): effects on host growth and assessment of parasite interaction. **Journal of Fish Diseases**, v. 25, n. 2, p. 81-89, 2002.

BRANDINI, F. P.; SILVA, A. S.; PROENÇA, L. A. O. Oceanografia e maricultura. In: VALENTI, W. C.; *et al* (org.) **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília, CNPq/MCT, p. 107-141, 2000.

BRUCKNER, A. W. The importance of ornamental reef fish trade in the wider Caribbean. **International Journal of Tropical Biology and Conservation**, v. 53, n. 1, p. 127–138, 2005.

BUCHMANN, K.; BJERREGAARD, J. Comparative efficacies of commercially available benzimidazoles against *Pseudodactylogyrus* infestations in eels. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 9, p. 117-120, 1990.

BULLER, N. B. **Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual**. CABI, 2004.

BUSH, A.O., LAFFERTY, K.D., LOTZ, J.M., SHOSTAK, A.W. Parasitology meets ecology on its own terms. Margolis *et al.* Revisited. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 83, n. 4, p. 575-583, 1997.

CALIXTO, F. A. A. et al. First report of *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* (Raphidascarididae) in cobia (*Rachycentron canadum* (Linnaeus 1766) farming in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 1, p. 85-89, 2017.

CAMARGO, S.G.O.; POUHEY, J.L.O.F. Aquicultura – um mercado em expansão. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 11, p. 393-396, 2005.

CAVALLI, R.O.; FERREIRA, J.F. O futuro da pesca e da aquicultura marinha no Brasil: a maricultura. **Ciência e Cultura**, v. 63, p. 38-39, 2010

CECCARELLI, P. S.; FIGUEIRA, L. B.; FERRAZ DE LIMA, C. L. B.; OLIVEIRA, C. A.. Observações sobre a ocorrência de parasitos no CEPTA entre 1983 e 1990. **Boletim Técnico CEPTA**, v. 3, p. 43-54, 1990.

CHANG, D. O cultivo de Bijupirá em Taiwan. **Panorama da Aquicultura**, v. 13, p. 43-49, 2003.

CHEUNG, William WL; PITCHER, Tony J.; PAULY, Daniel. A fuzzy logic expert system to estimate intrinsic extinction vulnerabilities of marine fishes to fishing. **Biological Conservation**, v. 124, n. 1, p. 97-111, 2005.

CRAIG, S.R.; SCHWARZ, M.H.; MCLEAN, E. Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. **Aquaculture**, v.261, p.384-391, 2006.

EIRAS, G. J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. Maringá: EDUM, 2006

FAO, The State of World Fisheries and Aquaculture 2016 (SOFIA): Contributing to food security and nutrition for all, Rome: Food and Agriculture Organization, 2016, pp. 200.

- GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; *et al.*
Reproductibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, v. 56, n. 1, p. 35-39, 1971.
- GOPAKUMAR, G. Culture of Marine Ornamental Fishes with reference to Production Systems, Feeding and Nutrition. **International Seminar on Ornamental Fish Breeding, Farming and Trade**, v. 5–6 Februa, n. Cochin, 2006.
- GUERRA-SANTOS, Bartira et al. Parameters hematological and histopathologic alterations in cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) com amyloidinose. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 11, p. 1184-1190, 2012.
- GUIDO, M. C. **Relação Parasita–Hospedeiro**. Aulas: Epidemiologia, 2009. Disponível em: <<http://www.mcguido.vet.br/parasita-hospedeiro.htm>>. Acesso em: 15 março 2011.
- HOLT, J. G.; FAULK, C. K.; SCHWARZ, M. H. A review of the larviculture of cobia *Rachycentron canadum*, a warm water marine fish. **Aquaculture**, v. 268, p. 181–187, 2007.
- ISHIKAWA, N.M., RANZANI-PAIVA, M.J.T., LOMBARDI, J.V. Metodologia para quantificação de leucócitos totais em peixe, *Oreochromis niloticus*. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.13, p. 54-63, 2008.
- KERBER, Claudia Ehlers et al. First record of *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) in sea-farmed cobia (*Rachycentron canadum*) in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 331-333, 2011
- KLESIOUS, P.; ROGERS, W. Parasitisms of catfish and other farm-raised food fish. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.207, n.11, p.1473–1478, 1995.
- LANGO-REYNOSO, F. et al. La acuariofilia de especies ornamentales marinas: un mercado de retos y oportunidades. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 40, n. 1, p. 12–21, 2012.

- LE CREN, E.D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). **The Journal of Animal Ecology**, v. 20, n.2, p. 201-219, 1951.
- LEIS, J.M. et al. Development of morphology and swimming in larvae of a coral-reef fish, the royal gramma, *Gramma loreto* (Grammatidae: Teleostei). **Scientia Marina**, v. 76, n. 2, p. 281–288, 2012.
- LIAO, I.C.; LEAÑO, E.M. **Cobia aquaculture**: research, development and commercial production. Taiwan: Asian Fisheries Society, 2007. 178p.
- LIAO, I.C.; HUANG, T.S.; TSAI, W.S.; HSUEH, C.M.; CHANG, S.L.; LEAÑO, E. M. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Fisheries Research**, v. 237, p. 155 – 165, 2004.
- LIMA, L.C.; RIBEIRO, L.P.; LEITE, R.C.; MELO, D.C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, p. 113-117, 2006.
- LIN, J.H.Y.; CHEN, T.Y.; CHEN, M.S.; CHEN, H.E.; CHOU, R.L.; CHEN, T.I.; SU, M.S.; YANG, H.L. Vaccination with three inactivated pathogens of cobia (*Rachycentron canadum*) stimulates protective immunity. **Aquaculture**, v. 255, p. 125–132, 2006.
- LOM J., DYKOVA I. **Protozoan parasites of fishes**. Elsevier. Amsterdam, 315 pp., 1992.
- LOM, J. A contribution to the systematics and morphology of endoparasitic trichodinids from amphibians, with a proposal of uniform specific characteristics. **Journal of Eucaryotic Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 251-263, 1958.
- MARTINS, M.L. Doenças Infecciosas e Parasitárias de Peixes. **Boletim Técnico CAUNESP**, São Paulo, Brasil, 66 p., 1998.
- MARTINS, M. L.; ROMERO, N.G. Efectos del parasitismo sobre el tejido branquial en peces cultivados: estudio parasitologico e histopatologico. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 13, n. 2, p. 489-500, 1996.

MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R.; BOZZO, A.M.; PAIVA, F.C.; GONÇALVES, A. Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the state of São Paulo, Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 24, p. 981-985, 2002.

MOLNÁR, K. Effect of decreased water oxygen content on common carp fry with *Dactylogyrus vastator* (Monogenea) infection of varying severity. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.20, p.153-157, 1994.

MONTEIRO-NETO, C. et al. Analysis of the marine ornamental fish trade at Ceara State, northeast Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 12, n. 6, p. 1287–1295, 2003.

MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: Cyrino, J.E.P., Urbinati, E.C., Fracalossi, D.M., Castagnolli, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. p. 343-383.

MUMBY, P.J. et al. Mangroves enhance the biomass of coral reef fish communities in the Caribbean. **Nature**, v. 427, n. 6974, p. 533-536, 2004.

OSORIO, C.R.; TORANZO, A.E.; ROMALDE, J.L.; BARJA, J.L. Multiplex PCR assay for ureC and 16S rRNA genes clearly discriminates between both subspecies of *Photobacterium damsela*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 40, n. 3, p. 177–83, 20 abr. 2000.

PLUMB J.A.; HANSON L.A. **Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes**. Wiley-Blackwell, 492 pp., 2010.

POULIN, R. The Diversity of Parasites. **The Quarterly Review of Biology**, v. 75, p. 277–293, 2000.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SILVA-SOUZA, AT. Co-infestation of gills by different parasite groups in the mullet, *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae): effects on relative condition factor. **Brazilian journal of biology**, v. 64, n. 3B, p. 677-82, 2004.

RAY, C.; ROBINS, C.R. **A field guide to Atlantic coast fishes: North America**. Houghton Mifflin Harcourt, 2016.

RESLEY, M.J.; WEBB, K.A.; HOLT, G.J. Growth and survival of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*, at different salinities in a recirculating aquaculture system. **Aquaculture**, v. 253, n. 1-4, p. 398–407, mar. 2006.

ROBERTS, R.J. **Fish Pathology**. John Wiley & Sons, 2012.

ROHDE, K. (Ed). **Marine Parasitology**. Collingwood: CSIRO Publishing, p. 55-71, 2005.

SAMPAIO, L.A. et al. Culture of cobia *Rachycentron canadum* (L) in near-shore cages off the Brazilian coast. **Aquaculture Research**, v. 42, p. 832-834, 2011.

SANCHES, E.G.; SECKENDORFF, R.W.V.; HENRIQUES, M.B.; FAGUNDES, L.; SEBASTIANI, E.F. Viabilidade econômica do cultivo bijupirá em sistema offshore. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.38, n.12, 2008

SARAIVA A. Pesquisa de agentes patogénicos em truta arco-íris *Salmo gairdneri*. Relatório para um trabalho prático. Provas de Aptidão Científica e Capacidade Pedagógica. 51 pp., 1986.

SAZIMA, C. et al. What makes a species central in a cleaning mutualism network? **Oikos**, v. 119, n. 8, p. 1319–1325, 2010.

SAZIMA, I.; GASPARINI, J.L.; MOURA, R.L. *Gramma brasiliensis*, a new basslet from the western South Atlantic (Perciformes: Grammatidae). **Aqua, Journal of Ichthyology and Aquatic Biology**, v. 3, n. 1, p. 4, 1998.

SHAFFER, R.V.; NAKAMURA, E.L. **Synopsis of biological data on the cobia *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae)**. Washington D.C.: U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Report, 1989. (FAO Fisheries Synopsis 153)

SILVA, A.C. et al. First Record of *Tuxophorus caligodes* (Siphonostomatoida, Tuxophoridae) in sea-farmed cobia, *Rachycentron canadum*, in Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 21, n. 4, p.1-3, 2012.

SMITH, C.L., 1997. **National Audubon Society field guide to tropical marine fishes of the Caribbean, the Gulf of Mexico, Florida, the Bahamas, and Bermuda**. Alfred A. Knopf, Inc., New York. 720 p.

SNIESZKO, S.F. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 6, p. 197–208, 1974.

SOUZA-FILHO, J.J.; TOSTA, G.A.M. Bijupirá: as primeiras desovas da geração F1. **Panorama da Aqüicultura**, v. 18, n. 110, p.50-53, 2008.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Características Hematológicas de *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em “pesque-pague” de Franca, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 19, n. 1, p. 107-114, 2003.

THATCHER, V. E.; BRITES-NETO, J. B. Diagnóstico, Prevenção e Tratamento de Enfermidades de peixes neotropicais de água doce. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 16(3), p. 111-128. 1994

THATCHER, V. Patologia de peixes da Amazônia brasileira. 1. Aspectos gerais. **Acta Amazonica**, v. 11, p. 125-140, 1981.

VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. **Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Ministério da Ciência e Tecnologia, CNPq, Florianópolis, p. 309, 2000.

VAN AS, J.G.; BASSON, L. A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichia) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids. **Systematic Parasitology**, Dordrecht, v. 14, n. 3, p. 157-179, 1989.

VAN DER VELDE, T.D.; GRIFFITHS, S.P.; FRY, G.C. Reproductive biology of the commercially and recreationally important cobia *Rachycentron canadum* in northeastern Australia. **Fisheries Science**, v. 76, n. 1, p. 33–43, 2009.

WARD, P.; MYERS, R.A. Shifts in open-ocean fish communities coinciding with the commencement of commercial fishing. **Ecology**. New York, v. 4, n. 86, p. 835-847, 2005.

APÊNDICE A – REVISÃO *RACHYCENTRON CANADUM*

Principais parasitoses em bijupirá, *Rachycentron canadum*

Gabriela Hashimoto¹, Mônica Yumi Tsuzuki², Cauê Bonucci Moreira²,
Eduardo Luiz Tavares Gonçalves^{1,2} & Maurício Laterça Martins¹

¹Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil

²Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-001 Florianópolis, SC, Brasil

Correspondência para: Maurício L. Martins, Departamento de Aquicultura, CCA, UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil. Telefone: 48-37219923, E-mail: mauricio.martins@ufsc.br

INTRODUÇÃO

Devido ao aumento significativo do cultivo de peixes e de sua comercialização, pesquisas relacionadas aos parasitos e outros patógenos recorrentes nestes animais tem ganhado foco nos estudos, principalmente de peixes com potencial de cultivo e representativo valor comercial (LUQUE, 2004). A proliferação de doenças parasitárias e a falta de métodos adequados para o controle e prevenção nos cultivos têm causado grandes perdas econômicas, em virtude de onerosos tratamentos com produtos químicos, culminando em drásticas consequências para o produto final (NOWAK, 2007). Assim como o mercado consumidor, a legislação também exige produtos livres de qualquer tipo de contaminantes, tanto patógenos, quanto químicos, com isso, a prática do uso indiscriminado de produtos químicos deve ser evitada.

Em cultivos intensivos, os animais estão constantemente expostos a inúmeros fatores que acarretam estresse, como: alta densidade de estocagem, baixa qualidade de água, variações de temperatura, oscilações na concentração de oxigênio, alimentação incorreta ou deficiente em nutrientes, manejo e transporte inadequados (MARTINS, 2004 a). Tais fatores favorecem a quebra no equilíbrio do sistema hospedeiro/parasito/ambiente (MARTINS, 2004 b).

Para alcançar sucesso em cultivos, faz-se necessária a implantação de medidas sanitárias que dependem de três fatores para seu funcionamento. O primeiro deles é a conscientização do produtor ou proprietário de que os aspectos de manejo sanitário devem ser levados em consideração, durante todo o processo produtivo. O segundo, a presença de um profissional para orientar o produtor e realizar o correto diagnóstico das enfermidades. E por fim, a fiscalização governamental das pisciculturas, principalmente no momento do transporte dos peixes.

Devem-se incluir também medidas profiláticas, como a quarentena, constante verificação da sanidade dos reprodutores, controle dos parâmetros de qualidade da água e adequada formulação de ração para diferentes espécies (MARTINS, 2004 a).

Segundo a FAO (2012), a aquicultura marinha em 2011 teve uma produção de 19,3 milhões de toneladas, representando crescimento de 20% em relação ao ano de 2006. O bijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766), também conhecido como cobia, tem despertado grande interesse do setor privado e da comunidade científica em razão de ser uma espécie marinha de cultivo emergente (CAVALLI; HAMILTON, 2007), em consequência de características positivas de cultivo, como: rápido crescimento, podendo chegar a 6 kg em um ano (CHEN et al., 2001);

facilidade de desovar em cativeiro (ARNOLD et al., 2002; SOUZA-FILHO; TOSTA, 2008); excelente sabor e bom aproveitamento da carcaça; resposta positiva à vacinação (LIN et al., 2006); e outras qualidades que tem justificado tal crescimento (CHOU et al., 2001).

Por outro lado, Guidelli et al. (2008) recentemente registraram 13 espécies de parasitos em peixes selvagens analisados, demonstrando o potencial da espécie em abrigar agentes etiológicos com potencial patogênico quando em cultivo.

Além disso, assim como em outras espécies de peixes, a expansão da produção vem acompanhada por uma crescente incidência de doenças (Mc LEAN et al., 2008), sendo necessária, portanto, precaução com a ampla gama de parasitos que podem acometer o bijupirá como helmintos Digenea e Monogenea, cestóides, nematóides, acantocéfalos e crustáceos copépodes (SHAFFER; NAKAMURA, 1989).

Parasitose causada por Monogenea

A classe Monogenea pertence ao filo Platyhelminthes e possui grande variedade de espécies parasitas de peixes, que podem ser encontradas nas brânquias, superfície corporal, nadadeiras e outras partes do peixe (WHITTINGTON, 2004). Em bijupirás cultivados a infestação por ectoparasitos Monogenea, especialmente do gênero *Neobenedenia*, é importante causa de mortalidade (LIAO et al., 2004; OGAWA et al., 2006).

Neobenedenia melleni MacCallum, 1927 (Monogenea: Capsalidae) foi inicialmente descrito como *Epibdella melleni*, sendo causador de doença que afetou uma variedade de peixes marinhos tropicais do Aquário de Nova York (MUELLER; WATANABE, 1994). Posteriormente, a espécie foi redescrita e denominada *N. melleni* (WHITTINGTON; HORTON, 1996).

São considerados parasitos oportunistas, e surtos de infestação deste patógeno podem ocasionar mortalidades em larga escala, gerando enormes prejuízos nas criações (SANCHES, 2008). Nos cobias este parasito é comumente encontrado na superfície corporal, cabeça e em volta da região ocular (KERBER et al., 2011).

Esta espécie foi descrita pela primeira vez acometendo bijupirás no Brasil em 2010 por Kerber et al. (2011) onde os peixes apresentavam falta de apetite, crescimento prejudicado, hemorragias no corpo e opacidade ocular. Os autores afirmaram que a falta de manutenção da limpeza dos tanques-rede favoreceu o acúmulo de “fouling” e com isso a maior incidência e danos causados pelo patógeno.

Neobenedenia melleni é um ectoparasito generalista, descrito em mais de 100 espécies de hospedeiros (WHITTINGTON; HORTON, 1996). Ele atinge até 4 mm de comprimento (DEVENEY et al., 2001), sendo, portanto, visível a olho nu. Assim, como os demais representantes da classe Monogenea, a espécie possui ciclo de vida monoxênico, ou seja, apenas um hospedeiro é necessário para completar o ciclo (Figura 1).

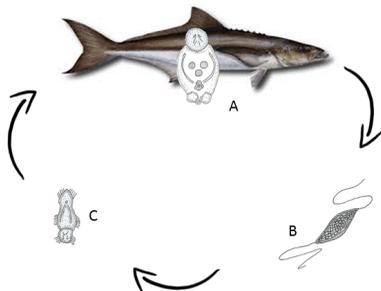


Figura 1: Desenho esquemático do ciclo de vida do Monogenea ovíparo *Neobenedenia melleni*. A: indivíduo adulto, B: ovo, C: oncomiracídio (redesenhado e adaptado de ROBINSON et al., 1989).

Os adultos são hermafroditas e produzem ovos em forma de diamante que ficam aderidos à cordas de muco, que podem cair e eclodir no substrato ou podem ficar presas no muco, produzido em excesso pelo peixe, e eclodir na epiderme (ROBINSON et al., 1989). Em poucos dias, são liberados oncomiracídios, os quais se assemelham a protozoários ciliados em tamanho e forma. A vida de natação livre de um oncomiracídio é curta, já que ele rapidamente procura um hospedeiro para se fixar, perde as células ciliadas e se transforma em adulto (ROBINSON et al., 1989).

Estes parasitos se alimentam de muco e células epiteliais do hospedeiro, que passam a raspar a superfície corporal no substrato ou nos tanques rede, causando danos e culminando em infecções secundárias (KERBER et al., 2011). Ao parasitar a superfície externa dos olhos do hospedeiro, este patógeno frequentemente pode causar hemorragias, exoftalmia e cegueira (Figura 2), deixando o hospedeiro vulnerável e incapaz de se alimentar adequadamente.

Animais altamente parasitados mostram redução do apetite, letargia, olhos opacos, descoloração e produção excessiva de muco (MUELLER; WATANABE, 1994). A proliferação destes parasitos está

associada à alta densidade de estocagem e alta temperatura da água (CHAMBERS; ERNST, 2005).



Figura 2: *Rachycentron canadum* coletados em Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, parasitados por *Monogenea* e com infecção secundária por bactérias. Fonte: Maíra Z. Dorneles.

De acordo com Kaneko et al. (1988), *N. melleni* causou grande mortalidade em tilápias (*Oreochromis mossambicus*) cultivadas em tanques-rede em Kaneohe Bay, Havaí, parasitando a superfície corporal e olhos dos peixes. Segundo Forcella et al. (2011), *N. girellae* Hargis, 1955 é também um patógeno importante nos cultivos de peixes marinhos. Ogawa et al. (1995) registraram pela primeira vez a presença de *N. girellae* em *R. canadum* no Japão. Chambers e Ernst (2005) também relataram infestações por *Benedenia* sp. inferindo que são a maior barreira para a expansão do cultivo de *Seriola lalandi*.

Peixes limpadores tem sido uma alternativa para controlar ectoparasitos de peixes (GRUTTER et al., 2002). Cowell et al. (1993) demonstraram a eficácia de diferentes espécies de peixes limpadores na remoção de *N. melleni* parasitando tilápias cultivadas em água salgada e segundo Benetti et al. (2007) o uso do gobídeo *Gobiosoma oceanops* foi benéfico para o bijupirá. Recentemente, Souza et al. (2012) verificaram que o uso de peixes limpadores (*Elacatinus figaro*) foi eficiente para controlar a parasitose por *N. melleni* em cultivo de garoupas (*Epinephelus marginatus*), apresentando eficiência de 88,9% (Figura 3).



Figura 3: a) *Neobenedenia melleni*; b) atividade de limpeza da garoupa verdadeira pelo peixe limpador *Elacatinus figaro*. Fonte: Roberto Almeida Rêgo de Souza.

As groupas mantidas sem os limpadores apresentaram exoftalmia e hemorragia corporal. Esta simbiose, quando bem balanceada, é uma alternativa biológica que evita o uso de produtos químicos. Entretanto, no presente momento é impraticável em níveis comerciais de produção (MUELLER; WATANABE, 1994).

O tratamento mais eficiente, citado por Mueller et al. (1992) e Kaneko et al. (1988) baseia-se em banhos de água doce para remoção do parasito adulto. Após tratamentos realizados com banhos de água doce, Kerber et al. (2011) observaram que os peixes voltaram a se alimentar normalmente em 4 dias, sendo que 30 dias após o banho nenhuma sequela foi registrada, apenas um crescimento tardio. Porém, segundo Mueller et al. (1992), os ovos de *N. melleni* são resistentes ao meio hipossalino, sendo necessária uma exposição de 72 h para impedir a eclosão. Além disso, este manejo pode ser impraticável em cultivos em grande escala ou em áreas onde o abastecimento de água doce é limitado.

Parasitose causada pelo protozoário *Amyloodinium ocellatum*

Amyloodinium ocellatum Brown, 1931 (Protozoa: Dinoflagellida), importante patógeno que afeta peixes marinhos em cultivo (BROWN, 1934; NOGA et al., 2001; KUPERMAN et al., 2001), tem sido relatado em grande variedade de espécies, principalmente em animais estocados em alta densidade (REED; FRANCIS-FLOYD et al., 1994). Em bijupirá, sua ocorrência tem sido comumente relatada em estágios larvais (LIAO et al., 2004; BENETTI et al., 2008), mas também em reprodutores (PEREGRINO et al., 2014).

Uma das características deste patógeno é o aspecto aveludado que pode provocar no tegumento do hospedeiro (denominada de "velvet

disease" ou doença do veludo) (Mc LEAN et al., 2008). Bastante generalista, pode ter como hospedeiro diversas espécies de peixes, tornando-se grande preocupação para aquários públicos e oceanários, uma vez que possuem diferentes espécies convivendo juntas (FRANCIS-FLOYD; FLOYD, 2011).

Este dinoflagelado pode ser encontrado nas brânquias ou superfície corporal do peixe, onde se fixa por meio de estruturas em forma de raiz denominadas rizocistos, que penetram profundamente no epitélio do hospedeiro (NIGRELLI, 1936). Como consequência, as brânquias tornam-se pálidas e aparentam sinais de hemorragia, hiperplasia e até necrose (MARTINS et al., 2001). Na superfície corporal provoca lesões que servem como portas de entrada para infecções secundárias provocadas por bactérias e fungos (SANCHES; VIANNA, 2007; CONROY; CONROY, 2008).

Seu ciclo de vida baseia-se em um único hospedeiro, permitindo sua rápida proliferação. O parasito possui três estágios de desenvolvimento (Figura 4): trofonte, estágio adulto que se fixa no peixe; tomonete, estágio encistado que divide internamente podendo produzir mais de 256 dinósporos; e dinósporo, estágio infectante de vida livre que procura o hospedeiro para completar o ciclo de vida (COBB et al. 1998; FRANCIS-FLOYD; FLOYD, 2011).

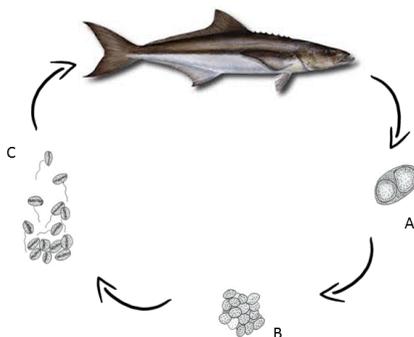


Figura 4: Desenho esquemático do ciclo de vida de *Amyloodinium ocellatum*. A: tomonete, B e C: dinósporos (redesenhado e adaptado de FRANCIS-FLOYD; FLOYD, 2011).

Altas densidades de estocagem, oscilações de temperatura, baixa qualidade de água e más condições, tanto de manejo sanitário quanto de práticas de prevenção, fazem com que a infestação por parasitos seja facilitada, aumentando a probabilidade de mortalidade.

No Brasil as principais estratégias adotadas no tratamento de *A. ocellatum* em *R. canadum* tem sido banhos profiláticos com formalina ou sulfato de cobre, conforme recomendações discutidas por Benetti et al. (2007, 2008). Entretanto, o tratamento deste protozoário é complexo em função de seu ciclo de vida com múltiplos estágios e de sua elevada tolerância a agentes químicos (PAPERNA, 1984).

Paperna (1983, 1984) relata que mesmo concentrações de 200 ppm de formalina foram incapazes de induzir efeitos letais no parasito e que eles são capazes de resistir a uma faixa de salinidade entre 1 e 78 ppt e a variações de temperatura entre 8 e 35°C.

Os agentes químicos que tem se mostrado mais eficazes no tratamento deste patógeno são o sulfato de cobre e o peróxido de hidrogênio, capazes de eliminar dinósporos e trofontes, respectivamente. Montgomery-Brock (2001) obteve sucesso no tratamento de juvenis de *Polydactylus sexfilis* tratados com 75 mg. l⁻¹ de peróxido de hidrogênio em banhos de 30 min e Paperna (1984) foi capaz de erradicar *A. ocellatum* em uma larvicultura de *Sparus aurata* por meio da aplicação de 0,75 ppm de sulfato de cobre durante duas semanas.

Tratamentos alternativos vêm sendo testados, entre os quais destacam-se o uso de cloroquina (LEWIS, 1988) e de peptídeos antimicrobianos (NOGA; FAN; SILPHADUANG, 2001), entretanto, ainda carecem de aprovação legal ou não são economicamente viáveis.

É fundamental reforçar que o uso de agentes químicos no tratamento de parasitoses além de oferecer riscos ao meio ambiente, também pode provocar efeitos deletérios à saúde dos hospedeiros, podendo até mesmo culminar em morte dos peixes tratados. Muitas espécies de peixes são sensíveis a níveis elevados de cobre na água (CARDEILHAC; WHITAKER, 1988) e a exposição das brânquias à formalina é capaz de causar lesões nas brânquias (REARDON; HARRELL, 1990).

Além disso, é preciso estar atento que o uso de produtos químicos está sujeito a regulamentações legais e que fatores como salinidade e temperatura podem afetar a toxicidade dos agentes químicos (REARDON; HARRELL, 1990), sendo recomendada a presença de um profissional capacitado antes da utilização de qualquer tratamento quimioterápico.

Portanto, o produtor deve priorizar o manejo sanitário, sempre atento que o uso de produtos químicos que podem trazer consequências ao peixe e ao consumidor. Seguindo tais medidas e fazendo uso de boas práticas de manejo é possível prevenir tais infestações, garantindo boa produtividade e, ao final, um produto de qualidade.

Outras parasitoses

Diversos outros parasitos já foram relatados em espécimes de *R canadum* ao redor do mundo e, ainda que não tenham sido responsáveis por prejuízos significativos no Brasil, devem receber atenção.

É o caso da doença do “slime-blotch” causada pelo protozoário ciliado *Brooklynella hostilis* Lom e Nigrilli, 1970 (Dysteriida: Hartmannulidae), que se reproduz assexuadamente por meio de divisão binária simples, sendo capaz de multiplicar-se rapidamente, parasitando as brânquias e superfície corporal do hospedeiro. Bunkley-Williams e Williams Jr. (2006) relataram este parasito como provável responsável pela mortalidade de 30.000 juvenis de bijupirá enviados do sul da Flórida para Porto Rico. Os mesmos autores relataram infestações moderadas nas brânquias e tegumento de *R canadum* pelos parasitos *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951 (Ciliophora: Ichthyophthiriidae) e *Ichthyobodo* sp. (Kinetoplastida: Bodonidae), conhecidos como íctio marinho e costia marinho, respectivamente.

O bijupirá apresenta ainda ampla diversidade de parasitos da sub-classe Digenea. Ao redor do mundo já foram relatadas mais de 20 espécies deste patógeno, pertencentes a 18 gêneros distintos, dentre as quais podemos citar *Bucephalus varicus* Mater, 1940, *Stephanostomum dentatum* (Linton, 1900) Manter, 1931 e *Aponurus carangis* Yamaguti, 1952 (Mc LEAN et al., 2008). Entretanto estes parasitos costumam ser menos prevalentes em animais cultivados, já que muitas vezes envolvem hospedeiros intermediários que nem sempre estão acessíveis aos peixes confinados. Além destes, já foi relatada também a presença de parasitos do filo Acanthocephala (BUNKLEY-WILLIAMS; WILLIAMS Jr., 2006), e das classes Cestoda (Mc LEAN et al., 2008) e Myxosporea (CHEN, 2011), sendo este último responsável por mortalidades de até 90%.

Em Taiwan foi registrado o primeiro caso de infestação por *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809 det. Krabbe, 1878) (Nematoda: Anisakidae). em *R. canadum*. Este nematoide, responsável pela zoonose Anisakiase e também por reações alérgicas, foi encontrado no estágio larval 3 e estava situado na cavidade visceral, porém nenhum parasito foi encontrado na musculatura (SHIH et al., 2010).

Um relato importante no Brasil foi o realizado por Silva et al. (2012) no qual registraram pela primeira vez a ocorrência do copépode parasito *Tuxophorus caligodes* Wilson, 1908 (Siphonostomatoida: Tuxophoridae) em bijupirá.

REFERÊNCIAS

ARNOLD, C.R.; KAISER, J.B.; HOLT, G.J. Spawning of cobia *Rachycentron canadum* in captivity. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, n. 2, p. 205-208, 2002.

BENETTI, D.D. et al. Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus). **Aquaculture Research**, vol. 39, n. 7, p. 701-711, 2008.

BENETTI, D.D. et al. Aquaculture of cobia (*Rachycentron canadum*) in the Americas and the Caribbean, In: LIAO, I.C; LEAÑO, E.M. (Eds.), **Cobia Aquaculture: Research, Development, and Commercial Production**. Asian Fisheries Society. The Fisheries Society of Taiwan, World Aquaculture Society, National Taiwan Ocean University, 2007, p. 57-77.

BROWN, E.M. On *Oodinium ocellatum* Brown, a parasitic dinoflagellate causing epidemic disease in marine fish. **Proceedings of the Zoological Society of London**, vol. 104, n. 3, p. 583-607, 1934.

BUNKLEY-WILLIAMS, L.; WILLIAMS JR., E.H. New records of parasites Cobia, *Rachycentron canadum* (Perciformes: Rachycentridae) in Puerto Rico. **Revista de Biología Tropical**, vol. 54, n. 3, p. 1-7, 2006.

CARDEILHAC, P.T.; WHITAKER, B.R. Copper treatments: uses and precautions. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 435-448, 1988.

CAVALLI, R.O.; HAMILTON, S. A piscicultura marinha no Brasil: afinal, quais as espécies boas para cultivar? **Panorama da Aqüicultura**, vol. 17, n. 104, p. 50-55, 2007.

CHAMBERS, C.B.; ERNST, I. Dispersal of the skin fluke *Benedenia seriolae* (Monogenea: Capsalidae) by tidal currents and implications for sea-cage farming of *Seriola* sp. **Aquaculture**, vol. 250, n.1-2, p. 60-69, 2005.

CHEN, S-C. et al. Mass mortality associated with a *Sphaerospora*-like myxosporidean infestation in juvenile cobia, *Rachycentron canadum* (L.), marine cage cultured in Taiwan. **Journal of Fish Diseases**, vol 24, n. 4, p. 189-195, 2001.

CHOU, R.L.; SU, M.S.; CHEN, H.Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, vol. 193, n.1-2, p. 81-89, 2001.

COBB, C.S.; LEVY, M.G.; NOGA, E.J. Development of immunity by the Tomato Clownfish *Amphiprion frenatus* to the dinoflagellate parasite *Amyloodinium ocellatum*. **Journal of Aquatic Animal Health** vol. 10, n. 3, p. 259-263, ago. 1998.

CONROY, G.; CONROY, D.A. Oodiniasis in farmed tilapias. **Aquaculture health international**, vol. 12, March, p. 20-21, 2008.

COWELL, L.E. et al. Use of tropical cleaner fish to control the ectoparasite *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) on seawater-cultured Florida red tilapia. **Aquaculture**, vol.113, n. 1, p. 189-200, 1993.

DEVENEY, M.R. et al. First published record of the pathogenic monogenean parasite *Neobenedenia melleni* (Capsalidae) from Australia. **Diseases of Aquatic Organisms.**, v. 46, n. 1, p. 79-82, 2001.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome: Fisheries and Aquaculture Department of FAO. United Nations Organization for Food and Agriculture, 2012.

FORCELLA, M. et al. Importance of nitric oxide synthase in the anchoring structures of *Neobenedenia girallae* – an important fish parasite. **Biochemical Systematics and Ecology**, vol. 39, n. 4-6, p. 841-845, 2011.

FRANCIS-FLOYD, R.; FLOYD, M.R. *Amyloodinium ocellatum*, an important parasite of cultured marine fish. Southern Regional Aquaculture Center, No. 4705, 2011.

- GRUTTER, A.S. et al. The effect of the cleaner fish *Labroides dimidiatus* on the capsalid monogenean *Benedenia lolo* parasite of the labrid fish *Hemigymnus melapterus*. **Journal of Fish Biology**, vol. 61, n. 5, p. 1098-1108, 2002.
- GUIDELLI, G.M. et al. Parasitas de bijupirá, *Rachycentron canadum* (Perciformes, Rachycentridae) do litoral do estado da Bahia. In: **X Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos**. Búzios: ABRAPOA, 2008.
- KANEKO, J.J. et al. Infection of tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Trewavas) by a marine monogenean, *Neobenedenia melleni* (MacCallum, 1927) Yamaguti, 1963 in Kaneohe Bay, Hawaii, USA, and its treatment. **Journal of Fish Diseases**, vol. 11, n. 4, p. 295-300, 1988.
- KERBER, C.E. et al. First record of *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) in sea-farmed cobia (*Rachycentron canadum*) in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 20, n. 4, p. 331-333, 2011.
- KUPERMAN, B.I.; MATEY, V.E.; HURLBERT, S.H. Parasites of fish from the Salton Sea, California, U.S.A. **Hydrobiologia**, The Hague, vol. 5, n. 8, p. 195-208, 2001.
- LEWIS, D.H. et al. Preliminary studies on the use of chloroquine as a systemic chemotherapeutic agent for amyloodinosis in red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Contributions in Marine Science**, v. 30, p. 183-189, 1988.
- LIAO, I.C. et al. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Aquaculture**, Amsterdam, vol. 237, n. 1-4, p. 155-165, 2004.
- LUQUE, J.L. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 13, supl. 1, p. 161-164, 2004.
- MAC CALLUM, G. A. A new ectoparasitic trematode, *Epibdella melleni*, sp. nov. **Zoopathologica**, New York, vol. 1, n. 2, p. 291-300, 1927.

MAHMOUD, M. A. et al. The role of ornamental goldfish *Carassius auratus* in transfer of some viruses and ectoparasites to cultured fish in Egypt: comparative ultrathin pathological studies. **African Journal of Aquatic Science**, vol. 34, n. 2, p.111-121, 2009.

MARTINS, M.L et al. *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus 1954) Lom, 1981 (Dinoflagellida) infection in cultivated freshwater fish from Northeast region of São Paulo State, Brazil. Parasitological and pathological aspects. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 61, n. 4, p. 639-644, 2001.

MARTINS, M.L. Cuidados básicos e alternativas no tratamento de enfermidades de peixes na aquicultura brasileira. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P. (Eds). **Sanidade de Organismos Aquáticos**. São Paulo: Editora Varela, 2004a, p. 321-330.

MARTINS, M.L. Manejo sanitário na piscicultura. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P. (Eds). **Sanidade de Organismos Aquáticos**. São Paulo: Editora Varela 2004b, p. 323-332.

MC LEAN, E.; SALZE, G.; CRAIG, S.R. Parasites, diseases and deformities of cobia. **Ribarstvo**, Zagreb, vol. 66, n. 1, p.1-16, 2008.

MONTGOMERY-BROCK, Dee et al. The application of hydrogen peroxide as a treatment for the ectoparasite *Amyloodinium ocellatum* (Brown 1931) on the Pacific threadfin *Polydactylus sexfilis*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 32, n. 2, p. 250-254, 2001.

MOREIRA, C.B. et al. Outbreak of mortality among cage-reared cobia (*Rachycentron canadum*) associated with parasitism. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 22, n. 4, p. 1-4, 2013.

MUELLER, K.W.; WATANABE, W.O. Occurrence and control of *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) in cultured tropical marine fish, including three new host records. **Progressive Fish-Culturist**, vol. 56, n. 2, p. 140-142, 1994.

MUELLER, K.W.; WATANABE, W.O.; HEAD, W.D. Effect of salinity on hatching in *Neobenedenia melleni*, a monogenean ectoparasite of seawater-cultured tilapia. **Journal of the World Aquaculture Society**, vol. 23, n. 3, p.199-204, 1992.

NIGRELLI, R.F. The morphology, cytology and life-history of *Oodinium ocellatum* Brown, a dinoflagellate parasite on marine fishes. **Zoologica**, vol. 21, p. 129-164, 1936.

NOGA, E. J.; FAN, Z.; SILPHADUANG, U. Histone-like proteins from fish are lethal to the parasitic dinoflagellate *Amyloodinium ocellatum*. **Parasitology**, v. 123, n. 1, p. 57-65, 2001.

NOGA, E.J.; FAN, Z.; SILPHADUANG, U. Histone-like proteins from fish are lethal to the parasitic dinoflagellate *Amyloodinium ocellatum*. **Parasitology**, vol. 123, n. 1, p.57-65, 2001.

NOWAK, B.F. Parasitic diseases in marine cage culture – an example of experimental evolution of parasites? **International Journal of Parasitology**, vol. 37, n. 6, p. 581-588, mai. 2007.

OGAWA, K. et al. *Neobenedenia girellae* (Hargis, 1955) Yamaguti, 1963 (Monogenea: Capsalidae) from cultured marine fishes of Japan. **Journal of Parasitology**, vol. 81, n. 2, p. 223-227, 1995.

OGAWA, K. et al. *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection of cultured cobia *Rachycentron canadum* in Taiwan. **Fish Pathology**, vol. 41, n. 2, p. 51-56, 2006.

PAPERNA, I. Chemical control of *Amyloodinium ocellatum* (Brown 1931) (Dinoflagellida) infections: in vitro tests and treatment trials with infected fishes. **Aquaculture**, v. 38, n. 1, p. 1-18, 1984.

PEREGRINO, R.B. et al. Desempenho reprodutivo do beijupirá (*Rachycentron canadum*) capturado no litoral de Pernambuco. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 66, n. 3, p. 681-687, 2014.

REARDON, I.S.; HARRELL, R.M. Acute toxicity of formalin and copper sulfate to striped bass fingerlings held in varying salinities. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 87, n. 3, p. 255-270, 1990.

REED, P.; FRANCIS-FLOYD, R. *Amyloodinium* infections of marine fish. Florida: University of Florida. Florida Cooperative Extension Service. *Fact Sheet* VM-90 1-3, 1994.

ROBINSON, R.D. et al. Infection of red hybrid tilapia with a monogenean in coastal waters off southern Jamaica. In: **Proceedings of the 42nd Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute**, Ocho Rios, Jamaica, pp. 441-447, 1989.

SANCHES, E. G. Control of *Neobenedenia melleni* (MacCallum, 1927) (Monogenea: Capsalidae) in dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), reared in floating net cages. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 17, n. 3, p. 145-149, 2008.

SANCHES, E.G.; VIANNA, R.T. Ocorrência de *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) em garoupa-verdadeira, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), cultivada em tanques-rede. **Arquivos de Ciências do Mar**, vol. 40, n. 2, p. 96-100, 2007.

SANTOS, R.F.B.; DIAS, H.M.; FUJIMOTO, R.Y. Acute toxicity and histopathology in ornamental fish amazon bluespotted corydora (*Corydoras melanistius*) exposed to formalin. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 4, p. 1001-1007, 2012.

SHAFFER, R.V.; NAKAMURA, E.L. **Synopsis of biological data on the cobia *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae)**. NOAA Technical Report NMFS 82, 1989.

SHIH, H.H.; KU, C.C.; WANG, C.S. *Anisakis simplex* (Nematoda: Anisakidae) third-stage larval infections of marine cage cultured cobia, *Rachycentron canadum* L. in Taiwan. **Veterinary Parasitology**, vol. 171, n. 3-4, p. 277-285, 2010.

SILVA, A.C. et al. First Record of *Tuxophorus caligodes* (Siphonostomatoida, Tuxophoridae) in sea-farmed cobia, *Rachycentron canadum*, in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 21, n. 4, p.1-3, 2012.

SOUZA, et al. Can barber goby *Elacatinus figaro* control *Neobenedenia melleni* infections on dusky grouper *Epinephelus marginatus*? **Aquaculture Research**, vol. 45, n. 4, p. 619-628, 2014.

SOUZA-FILHO, J.J.; TOSTA, G.A.M. Bijupirá: as primeiras desovas da geração F1. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, vol. 18, n. 110, p. 50-53, 2008.

WHITTINGTON, I.D. The Capsalidae (Monogenea: Monopisthocotylea): a review of diversity, classification and phylogeny with a note about species complexes. **Folia Parasitologica**, vol. 51, n. 2, p.109-122, 2004.

WHITTINGTON, I.D.; HORTON, M.A. A revision of *Neobenedenia* Yamaguti, 1963 (Monogenea: Capsalidae) including a redescription of *N. melleni* (MacCallun, 1927) Yamaguti, 1963. **Journal of Natural History**, vol. 30, n. 8, p. 1113-1156, 1996.