

VIRGÍNIA FONSECA PEDROSA

**LESÕES ANATOMOPATOLÓGICAS ASSOCIADAS À OCORRÊNCIA DE
BACTERIOSES EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) DE DIFERENTES SISTEMAS
DE CULTIVO EM PERNAMBUCO/BRASIL**

RECIFE

2009

VIRGÍNIA FONSECA PEDROSA

**LESÕES ANATOMOPATOLÓGICAS ASSOCIADAS À OCORRÊNCIA
BACTERIOSES EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) DE DIFERENTES SISTEMAS
DE CULTIVO EM PERNAMBUCO/BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura.

Orientador: Prof^ª Dr^ª Emiko Shinozaki Mendes

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Leandro dos Santos

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes

RECIFE

2009

Ficha catalográfica

P372L Pedrosa, Virgínia Fonseca
Lesões anatomopatológicas associadas à ocorrência de bacterioses em
tilápias (*Oreochromis niloticus*) de diferentes sistemas de cultivo em
Pernambuco/Brasil / Virgínia Fonseca Pedrosa. – 2009.
60 f. : il.

Orientador: Emiko Shinozaki Mendes
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e
Aqüicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.
Departamento de Pesca.
Inclui referências e anexo.

CDD 639

1. *Oreochromis niloticus*
2. Bactérias
3. Histopatologia
- I. Mendes, Emiko Shinozaki
- II. Título

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

Parecer da Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado de

VIRGÍNIA FONSECA PEDROSA

**Lesões anatomopatológicas associadas à ocorrência de bacterioses em tilápias
(*Oreochromis niloticus*) de diferentes sistemas de cultivo em Pernambuco/Brasil**

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de **Mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura** e aprovada pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura em sua forma final.

Recife, 27 de agosto 2009

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Emiko Shinozaki Mendes (UFRPE)
Orientador

Prof. Dr. Fernando Leandro dos Santos (UFRPE)
Membro Externo

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes (UFRPE)
Membro Interno

Prof. Dr. Athiê Jorge Guerra dos Santos (UFRPE)
Membro Interno

Prof^ª Dra Márcia Figueiredo Pereira (UFRPE)
Membro Suplente

DEDICATÓRIA

*À minha avó, Elvira da Rocha
Fonseca, que em sua plena
consciência, foi uma grande
incentivadora do meu crescimento
pessoal e profissional.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao CNPq pelo auxílio à pesquisa e bolsa concedida.

À Prof^a Dr^a Emiko Shinozaki Mendes pela orientação, confiança e amizade adquirida nesses anos de convívio.

Ao Prof. Dr. Fernando Leandro dos Santos pela co-orientação, por sua paciência, seus conselhos, e por ter aceitado o desafio de trabalhar com histopatologia de peixes, minha eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes pela grande colaboração nas análises estatísticas e por seu apoio e amizade.

Aos demais membros da banca examinadora, pela grande contribuição na participação e correção da dissertação.

À secretária da pós-graduação Selma Santiago, por sua paciência e por toda a sua ajuda nos momentos em que precisei.

Aos produtores de tilápia do estado de Pernambuco que colaboraram no fornecimento das amostras para a realização deste trabalho.

A todos os doutorandos, mestrandos e estagiários do Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos, do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE: Joanna Dourado, Andréa Barretto, Lílian Góes, Suely Bezerra, Bruno Cerqueira, Danilo Mendes, Vítor Gama, Rejane Luna, Eduardo Melo, Héliida Mello, Dulcilene Lacerda, pela imensa ajuda nas coletas e agradável convívio.

Às doutorandas Fernanda Silva Meirelles e Verônica Arns da Silva, por todo o apoio, companheirismo e incentivos nos momentos difíceis, muito obrigada.

À todos os professores, mestrandos, estagiários e funcionários da Área de Patologia Animal da UFRPE: Prof. Dr. Mário Menezes, Prof^a Dr^a Márcia Figueredo, Paulo Albuquerque, Bruno Henrique, Jaqueline, Simone, Karina, Goretti e Cleidinha, pelo apoio, ensinamentos e momentos de descontração.

Aos colegas de mestrado, pela amizade adquirida nesses anos de convívio: Aline Rocha, Ana Paula, Aprígio Marques, Dijaci Araújo, Elaine Cristina, Egidio Alves, Fábio Magno, Fábria Carraro, Ivo Thadeu, Maurício Pessoa, Magda Simone, Mirela Assunção, Renata Akemi, Rodrigo Risi, Ronaldo Barradas, Teresa Cristina e Reginaldo Júnior.

Aos amigos, que mesmo não participando diretamente das atividades, foram importantes aliados nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Francisco de Paula Pedrosa Neto e Elzanira Rocha Fonseca, pelo grande incentivo em todos os momentos, pelo amor e apoio em todos os dias da minha vida, muito obrigada.

Ao meu irmão Marcos Pedrosa pela distração que precisei nos momentos de aflição e ao meu mais novo irmão Giuseppe Bandeira, por todo o seu apoio e incentivo nos momentos em que precisei.

À Deus, por sempre me iluminar e me dar forças nos momentos mais difíceis.

RESUMO

A utilização de métodos, para identificação de agentes etiológicos, representa uma importante ferramenta para diagnosticar enfermidades e, conseqüentemente, tentar minimizar as perdas nas pisciculturas. Neste sentido, objetivou-se associar as lesões anatomopatológicas com a diversidade de bactérias encontradas em tilápias coletadas de diferentes sistemas de cultivo em Pernambuco. Foram coletadas 58 amostras de tilápias no período de estio e chuvoso, que foram submetidas à análises anatomopatológicas e bacteriológicas, tendo sido observada a ocorrência de *Aeromonas* spp. (29,3%), *Vibrio* spp. (41,4%) e enterobactérias dos gêneros *Klebsiella* spp. (17,2%), *Leminorella* spp. (1,7%), *Obesumbacterium* spp. (5,2%), *Proteus* spp. (1,7%), *Providencia* spp. (19%), *Salmonella* spp. (1,7%), *Shigella* spp. (1,7%) e *Taturnella* spp. (14%). Detectou-se uma dependência significativa ($p < 0,05$) das lesões anatomopatológicas, com as bactérias identificadas, como brânquias anêmicas, necrose no fígado e infiltrado eosinofílico no fígado nos animais com *Aeromonas* spp, lesões na superfície corporal e atrofia no baço nos casos com víbrios. Nos casos em que estiveram envolvidas enterobactérias de diferentes gêneros, observaram-se lesões nas nadadeiras, miocardite, necrose no fígado e no pâncreas e infiltrados inflamatórios nos fígado, podendo estar atribuídas ao desequilíbrio no ambiente. Esse desequilíbrio pode ter contribuído para a susceptibilidade dos animais frente aos agentes oportunistas, existindo também a possibilidade de estarem associadas à presença concomitante de *Aeromonas* spp, uma vez que houve uma correlação significativa ($p < 0,05$) na ocorrência de enterobactérias e *Aeromonas* spp. Verificou-se por meio de modelagem matemática, que os animais provenientes de fazendas de cultivo em tanques-rede, assim como os que possuem maiores comprimentos corporais, apresentaram melhor ganho de peso.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, bactérias, histopatologia.

ABSTRACT

The use of methods for identification of agents etiológicos represents an important tool to diagnose illnesses and consequently, to try to minimize the losses caused by the agent's permanence in the fish farmings. In this sense, it was aimed at to associate the lesions anatomopathological with the diversity of bacterias found in collected tilápias of different cultivation systems in Pernambuco. 58 tilápias samples were collected in the summertime period and rainy, that were submitted to analyses anatomopathological and bacteriological, having been observed the occurrence of *Aeromonas* spp. (29,3%), *Vibrio* spp. (41,4%) and enterobactérias of the goods *Klebsiella* spp. (17,2%), *Leminorella* spp. (1,7%), *Obesumbacterium* spp. (5,2%), *Proteus* spp. (1,7%), *Providencia* spp. (19%), *Salmonella* spp. (1,7%), *Shigella* spp. (1,7%) and *Taturnella* spp. (14%). A significant dependence was detected ($p < 0,05$) of the lesions anatomopathological, with the identified bacterias, as anemic gills, necrosis in the liver and infiltrated eosinofilico in the liver in the animals with *Aeromonas* spp, lesions in the corporal surface and he/she atrophies in the spleen in the cases with víbrios, lesions in the fins, myocarditis, necrosis in the liver and in the pancreas and infiltrated inflammatory in the liver they were observed in the cases in that enterobactérias of different genders were involved, could be attributed to the unbalance in the atmosphere, contributing in the susceptibilidade of the animals front to these agents opportunists, also existing the possibility of they be associated to the concomitant presence of *Aeromonas* spp, once there was a significant correlation ($p < 0,05$) in the enterobactérias occurrence and *Aeromonas* spp. It was verified, through mathematical modelling, that the coming animals of cultivation farms in tank-net, as well as the ones that possess larger corporal total lengths, they presented a better weight earnings.

Key words: *Oreochromis niloticus*, bacterias, histopathology.

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

Lista de tabelas

Lista de figuras

1. INTRODUÇÃO-----	11
2. REVISÃO DE LITERATURA -----	13
2.1 A aquicultura -----	13
2.2 A tilapicultura -----	14
2.3 Enfermidades bacterianas na piscicultura -----	15
3. OBJETIVOS -----	25
3.1 Geral -----	25
3.2 Específicos -----	25
4. ARTIGO CIENTÍFICO: Lesões anatomopatológicas associadas a ocorrência de bacterioses em tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>) de diferentes sistemas de cultivo em Pernambuco/Brasil.	26
RESUMO -----	27
INTRODUÇÃO -----	28
MATERIAL E MÉTODOS-----	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	34
CONCLUSÃO-----	37
AGRADECIMENTOS -----	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	38
TABELAS E FIGURAS -----	41
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS -----	43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	44
7. ANEXO -----	49
7.1 Questionário de visitas-----	49
7.2 Ficha de necropsia-----	52
7.3 Normas da revista -----	53

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Gêneros bacterianos isolados em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em Pernambuco com sua respectivas frequências. 43
- Tabela 2. Lesões observadas em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em Pernambuco associadas com os gêneros bacterianos identificados. 44

INTRODUÇÃO

O cultivo de espécies aquáticas em geral tem demonstrado um crescimento bastante progressivo, baseado na ampla costa litorânea e volume de águas continentais brasileiras.

O Brasil é o segundo país em importância na produção aquícola na América do Sul, ficando abaixo do Chile (IBAMA, 2005). A piscicultura de água doce apresenta um destacado potencial econômico, participando intensamente dos altos índices de produção, estando presente em todos os estados brasileiros, em cultivos de pequenas propriedades em tanques de terra ou alvenaria, a cultivos intensivos concentrados em sistemas de tanques-rede e raceways.

A tilápia é, entre as espécies de peixes mais cultivadas, a que melhor resiste à alta temperatura, a baixa concentração de oxigênio dissolvido e à alta concentração de amônia na água e ainda tem baixo custo relativo. A espécie de tilápia *Oreochromis niloticus* é a preferida para o cultivo, em função do seu rápido crescimento (BOSCOLOL, 2001).

O destacado crescimento produtivo, de grande impacto econômico e social, relacionado aos sistemas de criação semi-intensivo e intensivo, obriga o uso de elevadas densidades de estocagem trazendo como consequência o risco de aparecimento de enfermidades pelo aglomerado de animais.

Qualquer desordem de manejo no sistema aquático e/ou fisiológica no peixe, associada às concentrações elevadas de bactérias ou outros patógenos, facilita a disseminação de enfermidades nos cultivos, podendo gerar mortalidades elevadas. Neste contexto, a presença dos agentes bacterianos patogênicos, tem sido identificada como o perigo mais frequente e a sua ocorrência está relacionada a práticas impróprias de criação e poluição ambiental.

A adoção de medidas sanitárias de modo a minimizar a propagação de enfermidades, com o trânsito de animais, se reflete de grande importância. Uma dessas medidas está na notificação obrigatória de algumas doenças de peixes listadas na Organização Internacional de Epizootias (OIE), como de risco mundial. As viroses compreendem a grande maioria das

doenças inseridas nessa lista, sendo elas a Necrose Hematopoiética Epizoótica, Necrose Hematopoiética Infecciosa, Viremia Primavera da Carpa (VPC), Septicemia Hemorrágica Viral (SHV), Anemia Infecciosa do Salmão, Iridovirose da Dourada Japonesa e Herpesvirose da Carpa Koi. Dentro das doenças de origem micótica está a síndrome ulcerativa epizoótica, e entre as parasitoses está a girodactilose (*Gyrodactylus salaris*) que é ocasionada por um ectoparasita (OIE, 2009). Convém ressaltar que entre as doenças infecciosas em peixes, as de origem bacteriana têm apresentado maior significância patogênica em cultivos intensivos (THUNE et al., 1993). As bacterioses representam enfermidades de grande importância, principalmente nas pisciculturas intensivas, onde causam mortalidades acarretando grave impacto econômico. Embora não inseridas oficialmente na lista da OIE, alguns países as colocam em suas listas de notificação, a depender do grau de importância que representam em cada país.

A criação da tilápia do Nilo representa uma atividade aquícola bastante difundida e à medida que o setor se expande e se intensificam cada vez mais os cultivos, os problemas sanitários emergem, gerando grandes prejuízos econômicos aos proprietários, principalmente pela incipiência do setor perante a identificação das enfermidades que atingem a espécie em questão.

Diante do exposto, a atividade da aquicultura, com ênfase na piscicultura, está cada vez mais exposta ao surgimento de enfermidades no cultivo, estando sujeita a grandes prejuízos econômicos. A importância de pesquisas na área de sanidade aquícola reside no fato de existir uma enorme carência de métodos que auxiliem na detecção de enfermidades nas pisciculturas e que minimizem os impactos causados por tais enfermidades.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A aquicultura

A contribuição da aquicultura para o abastecimento mundial de pescado, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos vem apresentando um aumento, passando de uma produção total de 3,9% em 1970 para 36% em 2006 (FAO, 2009).

A aquicultura mundial tem aumentado drasticamente nos últimos 50 anos. Iniciou com uma produção de um milhão de toneladas no começo da década de 50, registrando em 2006 uma produção de 51,7 milhões de toneladas com um valor de 78800 milhões de USD. Convém dizer que a aquicultura segue crescendo a um ritmo maior que outros setores de produção de produtos de origem animal (FAO, 2009).

Em 2006, os países das regiões da Ásia e do Pacífico produziram 89% da quantidade total e 77% do valor total. Há registros de que a China produza 69% do total mundial e 49% do valor total da produção aquícola (FAO, 2009).

Entre os anos de 1999 e 2001, o volume de pescado capturado no mundo cresceu 7,8% e a aquíicultura, 187,6%. Com relação ao volume de produção na aquíicultura, os peixes foram os que contribuíram com a maior produção, 24,4 milhões de toneladas. O Brasil ficou na 17ª posição no ranking mundial da produção de pescado oriundo da aquíicultura (FAO, 2007).

A maior parte da produção aquícola de pescado, crustáceos e moluscos continua se originando de águas continentais (61% em quantidade e 53% em valor). Uma distribuição da produção aquícola por ambientes aquáticos mostra que o meio ambiente de água doce contribui em 58% em quantidade e em 48% em valor de tal produção (FAO, 2009).

A aquíicultura comercial foi introduzida no Brasil na década 1950, com a introdução de espécies exóticas tais como carpa, tilápia e truta que começaram a ser cultivadas, sobretudo em tanques de pequenas propriedades (IBAMA, 2005).

A produção aquícola e pesqueira brasileira alcançaram, no ano de 2004, um volume de 1.015.916 toneladas e apresentaram um acréscimo de 2,6% em relação ao ano de 2003. A aquicultura participou com 26,5% (269.697,50 toneladas) na produção total do Brasil, gerando US\$ 965.627,60 (FAO, 2007).

2.2 A tilapicultura

A tilápia (*Oreochromis niloticus*), originária da África e do Oriente Médio, foi introduzida ainda no século XX, e está presente nas pisciculturas comerciais de aproximadamente 100 países (FITZMMONS, 2000). Transformou-se no principal produto no comércio internacional e sua produção na China, excedeu 900000 toneladas em 2005 e nos Estados Unidos, era o sexto maior artigo popular de pescado. A produção e o consumo continuam a crescer em uma taxa anual de mais de 10% (MORRISON et al., 2006).

Espanha (2007) relata que quatro dos cinco países mais povoados do mundo se encontravam entre os maiores produtores e consumidores de tilápia: China, Indonésia, Brasil e Estados Unidos da América, sendo observado que vários países estavam incrementando sua produção, tais como: Israel, Cuba, México, Costa Rica, Honduras, Equador, Nigéria, entre outros.

As tilápias (*Oreochromis niloticus*) foram introduzidas no Brasil pela Secretaria da Agricultura do estado de São Paulo, em 1952, para conter a proliferação de algas e macrófitas aquáticas em represas (BOSCARDIN, 2008). Na região Nordeste, foram inseridas em 1971, através do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) (FREITAS et al., 1984).

A tilápia passou a ser a espécie de peixe mais cultivada no Brasil a partir do ano de 2002. Em 2004, a sua produção representou 26% do total produzido pela aquicultura nacional,

sendo que o país respondeu por 64% da produção total da espécie e 67% em receitas geradas pelo seu cultivo na América do Sul no referido ano (BOSCARDIN, 2008).

A tilapicultura é desenvolvida principalmente nas regiões Nordeste, Sul e Sudeste, sendo que a maior produção foi verificada na região Nordeste, responsável em 2004, por 41% da produção total da espécie no país. Esta região vem liderando o cultivo da espécie desde 2003, indicando claramente uma tendência de crescimento ancorada nas suas condições climáticas, na disponibilidade de tecnologia de cultivo e em um mercado crescente de consumo dessa espécie em nível regional e nacional (BOSCARDIN, 2008). O estado com maior produção da tilápia é o Ceará, seguido pelo Paraná e Bahia (IBAMA, 2005).

A tilápia é atualmente cultivada nos mais diversos sistemas de criação, como exemplo de semi-intensivo está o cultivo em viveiros de terra e de sistema intensivo, tanques-rede e raceways.

A tilápia é, entre as espécies de peixes mais cultivadas, a que melhor resiste à alta temperatura, a baixa concentração de oxigênio dissolvido e à alta concentração de amônia na água e ainda tem baixo custo, principalmente quanto ao alevino e à alimentação, sendo a espécie de tilápia preferida para o cultivo a *Oreochromis niloticus*, devido ao seu rápido crescimento e sua coloração clara (BOSCOLOL, 2001).

A diversidade de seu hábito alimentar aliada à rusticidade foram as principais características para o crescimento da sua criação, tornando a tilápia um dos peixes mais cultivados no mundo (CASTAGNOLLI e CYRINO, 1986). Al-Harbi e Uddin (2005) destacaram ainda a capacidade da tilápia de tolerar e até mesmo reproduzir em águas salobras.

2.3 Enfermidades bacterianas na piscicultura

Os peixes podem ser portadores de agentes etiológicos sem, contudo, apresentar sintomas clínicos, podendo ocorrer uma proliferação se houver alteração nas condições

ambientais ou do hospedeiro (MARTINS, 1998). A combinação de um agente infeccioso e o estresse provocado pelos fatores ambientais, causa a progressão da enfermidade e morte (CECCARELLI e ROCHA, 2001). A intensificação dos cultivos representa um dos principais fatores estressantes para os peixes, contribuindo para a permanência e disseminação do agente no ambiente, principalmente quando associada a variações abruptas nos parâmetros de manejo.

Os notáveis êxitos obtidos na aquicultura, tanto em países desenvolvidos como em países em via de desenvolvimento, têm feito perceber a grande importância do conhecimento das enfermidades das espécies cultivadas, sobretudo as enfermidades infecciosas que são responsáveis por grandes perdas na atividade piscícola (CECCARELLI e ROCHA, 2001).

Alexandrino (1998) ressaltou que a presença dos agentes bacterianos patogênicos, tem sido identificada como o perigo mais frequente, que compromete a qualidade dos produtos aquícolas. A sua ocorrência está relacionada às práticas impróprias de criação e poluição ambiental.

A maioria das bactérias que causam doenças são saprófitas do peixe e do ambiente. Várias delas podem ser encontradas na superfície corporal ou no trato intestinal, mas somente causam doença clínica quando os peixes são submetidos a estresse. Elevadas densidades, temperaturas críticas, manejo, ataques predatórios são algumas das condições estressantes que podem desencadear um surto de uma doença bacteriana (BROWN, 1993).

As enfermidades bacterianas na tilápia se apresentam, fundamentalmente, sob a forma de lesões na pele, bacteremia, septicemia e granulomatose. Geralmente as lesões na pele envolvem patógenos, principalmente quando o peixe sofre estresse por efeito de fatores ambientais ou de manejo (JIMÉNEZ, 2007).

Foi relatado por Al-Harbi e Uddin (2004), que a microbiota de tilápias varia de acordo com a estações do ano. Os bacilos Gram-negativos foram os principais achados

bacteriológicos, sendo as espécies *Aeromonas hydrophila*, *Shewanella putrefaciens*, *Corynebacterium urealyticum*, *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae* as mais abundantes, com prevalência maior que 10%, exceto para *Vibrio cholerae*. *Pseudomonas* spp foi isolada apenas no inverno, enquanto que *Photobacterium damsela*, *Pasteurella* spp, *Cellulomonas* spp e *Bacillus* spp em outras estações do ano.

Visando identificar as principais espécies bacterianas que acometem as tilápias cultivadas em tanque de alvenaria e de terra, Dal Pupo (2006) observou que a *Aeromonas hydrophila* foi a espécie com maior frequência de isolamento, seguida por *Aeromonas* spp, *Enterobacter cloacae* e *Pseudomonas fluorescens*. De modo geral, a família Aeromonadaceae apresentou maior frequência de isolamento em todos os sistemas, pois é considerada parte da microbiota de ambientes aquáticos.

Aeromonas é um patógeno comum de peixes de água doce, tem distribuição cosmopolita e normalmente encontradas no intestino dos peixes, águas e sedimentos de lagos ricos em matéria orgânica (AOKI, 1999; SHAMA et al., 2000). A espécie *Aeromonas hydrophila* não causa doença em peixes saudáveis e bem manejados (YANONG e FRANCIS - FLOYD 2006), mas pode contaminar carnes, vegetais e frutos do mar, causando septicemia e peritonite em humanos (PALUMBO, 1996).

Quando há doença, as aeromonas provocam lesões em peixes que se iniciam por ulcerações na pele da região do pedúnculo caudal e no corpo, seguindo-se de evolução para perda de pele, erosões, com completa destruição do pedúnculo caudal e exposição de musculatura. As lesões muitas vezes se apresentam recobertas de muco. Também ocorrem hemorragias difusas pelo corpo e especificamente na base das nadadeiras dorsal e caudal (BARCELLOS et al, 2008).

A morte dos peixes se dá pelas alterações nos órgãos internos e pela perda de capacidade de osmorregulação, devido às úlceras. A bactéria também produz uma toxina, a

acetilcolinesterase, que em grande quantidade é letal (RODRIGUEZ et al., 1993). A peritonite e a endotoxemia provocadas pelo estado septicêmico também são causas de morte de peixes acometidos pela *A. hydrophila* (PAVANELI et al, 1998).

Na histopatologia, nos casos de septicemia, pode observar depleção e necrose do tecido hematopoiético de rins e do baço, necrose da mucosa intestinal e necrose focal no coração, fígado, pâncreas e gônadas (NOGA, 1996). A presença de melanina livre ou lipofucsina, devido à ruptura dos centros melanomacrófagos, é bem característico da aeromonose (JIMÉNEZ, 2007).

No coração, a causa mais freqüente de insuficiência cardíaca aguda é a necrose tóxica do miocárdio, associada à infecção bacteriana aguda, particularmente freqüente nos peixes jovens e quase sempre relacionada com *Aeromonas* e *Vibrio*. Essa necrose pode ser acompanhada de uma toxemia, como resultado da presença de um foco microbiano localizado em qualquer tecido do corpo (ROBERTS, 1981).

Bactérias do gênero *Vibrio* é o agente etiológico da "peste vermelha", que afeta principalmente os peixes marinhos (SHAMA et al, 2000). FRERICHS (1989) relatou que a vibriose é doença bacteriana grave de peixes marinhos, que também pode ocorrer em peixes de água doce.

Os víbrios não são bactérias comuns nos cultivos de água doce, mas são patógenos facultativos, podendo sobreviver e se multiplicar no ambiente aquático, podendo ser isolados de áreas externas ou de órgão internos de peixes (JIMÉNEZ, 2007).

Em cultivo de tilápia do Nilo em água salobra, Al-Harbi e Uddin (2005) obtiveram uma menor diversidade de espécies bacterianas, quando comparada a sistemas de cultivo de água doce, predominando nessas condições bactérias do gênero *Vibrio*.

Sua prevalência está relacionada à contaminação orgânica da água e a uma moderada salinidade. Os casos de vibriose em fazendas de tilápia no Equador têm sido associados aos

tanques de engorda com tilápias adultas e em áreas geográficas com maior influência da salinidade, originando em alguns casos epizootias com elevada mortalidade de peixes. Aparentemente, condições de estresse ou variações súbitas de temperatura e/ou salinidade, favorecem o desenvolvimento de espécies de *Vibrio* afetando as tilápias no cultivo. (JIMÉNEZ, 2007).

Fouz et al. (2002) verificaram a susceptibilidade da tilápia do Nilo à vibriose experimental causada pelo *Vibrio vulnificus*, biotipo 2, e obtiveram resultados indicativos de que água e ração podem agir como veículo para a transmissão de vibriose, sendo ameaça à saúde, principalmente se criadas junto a enguias.

As espécies mais comuns de *Vibrio* identificadas em tilápias são o *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* e *V. vulnificus* (JIMÉNEZ, 2007).

Mesmo com uma frequência baixa para o número de amostras analisadas (0,6%), a família Vibrionaceae já foi detectada em cultivos de tilápias de água doce, identificando-se a espécie *Vibrio vulnificus*, em cultivo de tanque de terra, complementado com adubo orgânico. A espécie identificada apresenta potencial patogênico para peixes e seres humanos, sendo fruto de contaminação ambiental (DAL PUPO, 2006).

Os sinais clínicos de vibriose aparecem como uma infecção sistêmica semelhante à infecção por *Aeromonas* sp. Esta infecção, freqüentemente localiza-se em órgãos filtradores ricos em ferro, como o baço e os rins. Os peixes infectados também apresentam anorexia com mortalidade gradual (JIMÉNEZ, 2007).

No exame histopatológico, observam-se diversos graus de necrose no baço, com proliferação de macrófagos e melanomacróforos no tecido hematopoiético e numerosos eritrócitos necróticos, com bactérias livres, que geram a septicemia. Com a coloração de Perl's no parênquima do baço observam-se abundantes depósitos de hemossiderina e melanina nos macrófagos e melanomacróforos e hemossiderina livre no tecido

hematopoiético, originando processos de anemia. Também observam-se processos de necrose no fígado, mas no intestino é onde se observam graves lesões como enterite necrótica que produz exsudatos mucóides. Nos casos crônicos dessa enfermidade, as tilápias adultas podem apresentar no músculo, granulomas de variável intensidade e hemorragias (JIMÉNEZ, 2007).

Em infecções por *Vibrio salmonicida*, lesões histopatológicas aparecem sob forma de necrose no fígado, baço, rim e coração, freqüentemente com um severo dano à musculatura cardíaca (mionecrose), esgotamento de elementos hematopoiéticos, além de uma enterite necrótica que produz um exsudato mucóide, amarelado e de aspecto catarral (NOGA, 1996).

Dos agentes bacterianos amplamente distribuídos no ecossistema aquático, destacam-se aqueles pertencentes à família Enterobacteriaceae, cuja presença nesse ambiente pode ser reconhecida através de sua detecção na pele, brânquias e intestinos dos peixes e, quando há desequilíbrio do sistema bactéria-hospedeiro-ambiente, podem estar envolvidos como agentes etiológicos primários, inclusive desencadeando epizootias em piscicultura (HUBER et al., 2004)

Entre as enterobactérias, destacam-se em importância as bactérias do gênero *Salmonella* de origem humana e animal (NUNES, 1994). A *Shigella* spp também se reveste de grande importância pois estas são encontradas em águas poluídas por esgotos ou por fezes animais (GERMANO et al, 1998).

O gênero *Edwardsiella* também da família Enterobacteriaceae, inclui duas espécies de bactérias que causam doenças em peixe, a *Edwardsiella tarda* (EWING et al., 1965) que infecta peixe e outros animais e a *Edwardsiella ictaluri* (HAWKE, 1979) que só infecta peixe.

A *E. tarda* é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbica facultativa, móvel, responsável pela edwardsielose, causando perdas consideráveis em diversas espécies como catfish, carpa comum, truta, pacu, enguias, peixes ornamentais e tilápias (BULLER, 2004; MURATORI et al., 2001; NOGA, 1996).

Edwardsiella tarda produz a doença comumente conhecida como peixe gangrena, doença enfisematosa putrefrativa do peixe-gato ou doença vermelha de enguias e posteriormente conhecida como *Edwardsiella septicêmica* (PLUMB, 1999)

Roberts (1981) citou que *E. tarda* pode ser encontrada em águas contaminadas e isolada de urina e de fezes do homem e outras espécies superiores. Possui grande relevância como zoonose, sendo responsabilizada por ocasionar surtos diarréicos em humanos após consumir peixes de água doce (VAN DAMME e VANDERPITTE, 1980; NOGA, 1996). Segundo Noga (1996), está associada também à ambientes hídricos com altas temperaturas (até 42°C), comum em países tropicais.

A *Edwardsiella tarda* foi detectada por Muratori et al. (2001) em tilápias cultivadas em consórcio com suínos em Minas Gerais, sendo observado opacidade da córnea, dificuldade respiratória, nado desordenado, nódulos nas brânquias e lesões hemorrágicas na pele e nadadeiras, lesões hemorrágicas e necróticas no fígado, baço e rins, apresentando maiores índices de mortalidade no inverno e na primavera. Benli (2004) detectou *E. tarda* em tilápias que apresentavam hemorragias na pele e na boca e presença de alterações cutâneas, e taxa de mortalidade de 83% em quatro dias, relacionando à má qualidade da água e a presença deste agente.

Muratori et al. (2001) encontraram fígado de consistência friável e de coloração escura e com lesões hemorrágicas e necróticas, indicando nesse episódio, que os sinais foram compatíveis com a forma septicêmica da doença causada por *Edwardsiella tarda*.

Outras espécies como *P. fluorescens* e *P. putida* do gênero *Pseudomonas* foram muito tempo conhecidas como patógenos de doenças de peixe de água doce e salgada. Nos últimos 20 anos, vários representantes do gênero foram isolados em peixes doentes (SHAPERCLAUS, 1992). A *P. fluorescens* muitas vezes pode ser isolada de peixes em estado de decomposição e alimentos deteriorados (ROBERTS, 1981).

Um menor número de bactérias Gram-positivas causam doenças em peixes, sendo algumas causadas por *Rickettsia* e *Chlamydia* (BROWN, 1993). Inseridos no grupo *Rickettsia* e *Chlamydia*, os cocos e bacilos Gram-positivos que mais estão associados a doenças em peixes são *Streptococcus*, *Lactococcus* e *Renibacterium* (PADRÓS e FURONES, 2002).

A grande frequência das bacterioses na piscicultura intensiva foi destacada por Kubitza (2005), sendo a bactéria do gênero *Streptococcus* a mais frequente em tilápias e responsável por perdas significativas em sistemas de cultivo intensivo nos Estados Unidos. Assinala ainda o autor, que a presença de *Streptococcus* spp foi observada em muitas espécies de peixes, embora tenha sido mais frequente em tilápias.

Alguns autores descrevem o *Streptococcus* spp. como causador de doença em peixes, incluindo as espécies *Streptococcus iniae* (SHOEMAKER et al., 2000), *Streptococcus agalactiae* (SUANYUK et al., 2005) e *Streptococcus difficile* (BERRIDGE et al., 2001).

Estudando criações intensivas de tilápias (*Oreochromis niloticus*) na região norte do estado do Paraná, Salvador (2002) ressaltou que a septicemia causada por *Streptococcus* spp se apresentou como o maior problema sanitário de origem bacteriana. Dentro do gênero *Streptococcus*, as espécies *Streptococcus iniae* e o *Streptococcus difficile* foram consideradas os mais importantes patógenos de tilápias.

Shoemaker et al. (2000) demonstraram que a densidade tem um efeito significativo sobre a mortalidade de peixes infectados sob imersão por *Streptococcus iniae*, sendo observados índices maiores nos cultivos com média e alta densidade.

A temperatura elevada da água também aumenta a frequência da doença. Estudos realizados no AQUAVET (Laboratório de Doenças de Animais Aquáticos – UFLA), com infecção em condições controladas, mostrou que a susceptibilidade da tilápia ao *Streptococcus* aumenta quando a água passa dos 28°C para 32°C (FIGUEIREDO et al., 2007).

Outro potencial facilitador na manutenção do *Streptococcus* nos sistemas de cultivo de tilápia em tanque-rede, é a possibilidade da bactéria infectar peixes nativos do corpo de água que está sendo cultivado. Se infectados, esses peixes podem atuar como reservatórios do agente no ambiente (FIGUEIREDO et al., 2007)

A estreptococose pode gerar taxas de mortalidade maiores que 50% em um período de 3-7 dias (YANONG e FRANCIS – FLOYD, 2006). Alterações nas variáveis de manejo do ambiente aquático, de forma a torná-lo inadequado para o peixe, geram uma situação favorável para o aumento desta população bacteriana.

A compra de alevinos infectados, bem como ciclos contínuos de engorda, com renovação parcial e constante do plantel pode contribuir para a manutenção da estreptococose na fazenda. Isso acontece principalmente em regiões onde as águas são quentes e permitem o cultivo de tilápias durante o ano inteiro, situações essas comuns em sistemas de tanques-rede, onde se encontra diferentes fases de crescimento do peixe no mesmo corpo de água, facilitando uma constante despesca na fazenda. Com essa estruturação, a tendência é que ocorra a manutenção da doença no plantel por longos períodos (FIGUEIREDO et al., 2007).

Os sintomas são característicos, observando-se em processos originados por diversos cocos Gram positivos, associados a uma infecção crônica bastante severa de praticamente todos os órgãos (JIMÉNEZ, 2007). Os peixes afetados apresentam alterações no comportamento, como nado errático, dificuldade na natação, curvamento dorsal, e letargia. Com menor frequência observam-se outros sinais como dilatação abdominal, e dificuldade respiratória. Em geral, não são observadas lesões externas, embora, ocasionalmente se observam erosões nas nadadeiras e coloração roxa pálido nas brânquias. Internamente, se observa aparência amarronzada ou hemorrágica, palidez hepática, conteúdo mucoso marrom-avermelhado no intestino (JIMÉNEZ, 2007).

Uma doença com achados clínicos compatíveis com o diagnóstico de meningo-encefalite surgiu em peixes cultivados em Israel, com uma mortalidade de 30%. Nesse episódio, duas espécies de estreptococos, *Streptococcus shiloi* e *Streptococcus difficile*, foram confirmadas experimentalmente com inoculação em tilápias sadias que reproduziram os mesmos sintomas (ELDAR, 1995).

Infecções experimentais por *Streptococcus* spp em tilápias resultaram em lesões severas, como a meningo-encefalite, miocardite branda e também esplenite e ooforite, observadas pela histopatologia, segundo relataram Chang e Plumb (1996).

Após a inoculação de *Streptococcus* spp em tilápias do Nilo, as alterações mais significantes observadas no baço foram a presença de congestão e um aumento no número de centros melano-macrófagos. A principal alteração histológica em tilápias do Nilo inoculadas com estreptococos foi o infiltrado de células mononucleares no epicárdio, sendo as células predominantes os macrófagos, seguindo-se em quantidades decrescentes os linfócitos, eosinófilos e neutrófilos (INOCENTE FILHO, 2004).

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

Diagnosticar doenças bacterianas em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em Pernambuco.

3.2. ESPECÍFICOS

- Descrever as principais alterações clínicas e lesões macroscópicas encontradas nas pisciculturas do estado de Pernambuco;
- Identificar as principais lesões histopatológicas encontradas nas tilápias;
- Associar todas as alterações macroscópicas e microscópicas encontradas com a ocorrência de doenças bacterianas.

4. ARTIGO CIENTÍFICO

Parte dos resultados obtidos durante o trabalho experimental dessa dissertação é apresentado no artigo intitulado **Lesões anatomopatológicas associadas à ocorrência de bacterioses em tilápias (*Oreochromis niloticus*) de diferentes sistemas de cultivo em Pernambuco/Brasil** (manuscrito), que se encontra anexado.

MANUSCRITO

**Lesões anatomopatológicas associadas à ocorrência de bacterioses em
tilápias (*Oreochromis niloticus*) de diferentes sistemas de cultivo em
Pernambuco/Brasil**

Manuscrito a ser submetido à revista

Pesquisa Agropecuária Brasileira

ISSN: 1678-3921(Eletronic Version)

1 **Lesões anatomopatológicas associadas à ocorrência de bacterioses em tilápias**
2 **(*Oreochromis niloticus*) de diferentes sistemas de cultivo em Pernambuco/Brasil**

3
4 Virgínia Fonseca Pedrosa⁽¹⁾, Fernanda Silva de Meirelles⁽²⁾, Verônica Arns da Silva⁽²⁾,
5 Fernando Leandro dos Santos⁽²⁾, Paulo de Paula Mendes⁽¹⁾ e Emiko Shinozaki Mendes⁽²⁾.

6
7 ⁽¹⁾Depto de Pesca e Aqüicultura/UFRPE. End. Av. Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois
8 Irmãos. Recife/PE, Brasil (81) 3320-6420 / 3320-65-07 (vikavet@yahoo.com.br,
9 Paulo_ufrpe@yahoo.com.br).

10 ⁽²⁾Depto de Medicina Veterinária/UFRPE. End. Av. Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois
11 Irmãos. Recife/PE, Brasil (81) 3320-6419/3320-6420 (fdameirelles@yahoo.com.br,
12 veronicaarns@yahoo.com.br, fls@dmv.ufrpe.br, esmendes@dmv.ufrpe.br).

13
14 Resumo – A utilização de análises laboratoriais para identificação de patógenos
15 representa uma importante ferramenta para diagnosticar enfermidades e assim minimizar os
16 prejuízos causados por estes agentes nas pisciculturas. Neste sentido, objetivou-se associar as
17 lesões anatomopatológicas com a diversidade de bactérias encontradas em tilápias coletadas
18 em diferentes sistemas de cultivo em Pernambuco. Cinquenta e oito amostras de tilápias,
19 coletadas no período de estio e chuvoso, foram submetidas a análises anatomopatológicas e
20 bacteriológicas. Resultados mostraram a ocorrência de *Aeromonas* spp. (29,3%), *Vibrio* spp.
21 (41,4%) e enterobactérias dos gêneros *Klebsiella* spp. (17,2%), *Leminorella* spp. (1,7%),
22 *Obesumbacterium* spp. (5,2%), *Proteus* spp. (1,7%), *Providencia* spp. (19%), *Salmonella* spp.
23 (1,7%), *Shigella* spp. (1,7%) e *Taturnella* spp. (14%). Detectou-se uma dependência
24 significativa ($p < 0,05$) das lesões anatomopatológicas com as bactérias identificadas.
25 Animais infectados com *Aeromonas* spp. apresentaram brânquias anêmicas, necrose e
26 infiltrado eosinofílico no fígado. Lesões na superfície corporal e atrofia no baço nas infecções
27 com vírios. Nos casos envolvendo enterobactérias dos diferentes gêneros, observaram-se
28 lesões nas nadadeiras, miocardite, necrose no fígado e no pâncreas e infiltrados inflamatórios
29 no fígado. Verificou-se por meio de modelagem matemática, que animais cultivados em
30 tanques-rede, assim como os que possuem maiores comprimentos corporais, apresentam
31 melhor ganho de peso.

32
33
34 Termos para indexação: *Oreochromis niloticus*, bactérias, histopatologia.

35

36

37 **Anatomopathological lesions associated with occurrence of the bacteriosis in tilapias**
38 **(*Oreochromis niloticus*) from different cultivation systems in Pernambuco/Brazil.**
39

40
41 Abstract – The use of laboratory analysis to identify pathogens is an important tool that can
42 help to minimize the losses caused by these agents in the fish farms. Knowing that, the aim of
43 this study was to associate anatomopathological lesions with the diversity of bacteria found in
44 the tilapia fish. Fifty eight samples of tilapia were collected during the dry and rainy season
45 from different farms in Pernambuco. Pathological and bacteriological analyses were
46 performed. Results show the presence of *Aeromonas* spp. (29,3%), *Vibrio* spp. (41,4%) and
47 Enterobacteriaceae of the genera *Klebsiella* spp. (17,2%), *Leminorella* spp. (1,7%),
48 *Obesumbacterium* spp. (5,2%), *Proteus* spp. (1,7%), *Providencia* spp. (19%), *Salmonella* spp.
49 (1,7%), *Shigella* spp. (1,7%) e *Taturnella* spp. (14%). There was a significant interaction ($p <$
50 0.05) between the pathological lesions and the bacteria identified. Animals infected with
51 *Aeromonas* spp presented anemic gills and liver with necrosis and eosinophilic infiltrate.
52 Lesions in the body surface and atrophies in the spleen were associated with vibrios. In cases
53 of infection with Enterobacteriaceae of different genera the animals showed lesions in the fin,
54 myocarditis, necrosis in the liver and pancreas and inflammatory infiltrate in the liver.
55 Statistical analyses showed that fishes that were cultured in fishnet tanks as well as fishes that
56 had greater body length obtained a better weight gain.
57

58 Terms for Indexation: *Oreochromis niloticus*, bacterias, histopathology.
59
60

61 **Introdução**

62 A maior parte da produção aquícola de pescado, crustáceos e moluscos continua vindo de
63 águas continentais (61% em quantidade e 53% em divisas). Em 2006, mais da metade da
64 produção aquícola mundial estava composta por peixes de água doce. A produção ascendeu
65 em 27,8 milhões de toneladas, com um valor de 29 500 milhões de dólares (Fao, 2009).

66 O Brasil, apesar de contribuir com uma parcela bastante reduzida das importações norte-
67 americanas de tilápia, forneceu, em 2004 cerca, de 320 toneladas de filés frescos para os
68 EUA, o que representou quase o triplo da quantidade exportada no ano de 2002 (Firetti &
69 Sales, 2004).

70 A região nordeste no Brasil vem liderando o cultivo da espécie desde 2003, sendo
71 responsável em 2004, por 41% produção total da espécie no país, indicando claramente uma
72 tendência de crescimento ancorada nas suas condições climáticas, na disponibilidade de

73 tecnologia de cultivo e em um mercado crescente de consumo dessa espécie em nível regional
74 e nacional (Boscardin, 2008).

75 A presença dos agentes bacterianos patogênicos tem sido identificada como o perigo mais
76 freqüente e a sua ocorrência está relacionada a práticas impróprias de criação e poluição
77 ambiental.

78 Shoemaker et al. (2000) descrevem o *Streptococcus* spp. como causador de doença em
79 peixes, incluindo as espécies *Streptococcus iniae*, *Streptococcus agalactiae* (Suanyuk et al.,
80 2005) e *Streptococcus difficile* (Berridge et al., 2001).

81 Apesar de não serem comuns em cultivos de água doce, os vibrios são patógenos
82 facultativos que podem sobreviver e se multiplicar no ambiente aquático, podendo ser
83 isolados de áreas externas ou de órgão internos de peixes. Os casos de vibriose em fazendas
84 de tilápia no Equador têm sido associados com tilápias adultas em áreas geográficas com
85 maior influência da salinidade, em alguns casos originando epizootias com alta mortalidade
86 (Jiménez, 2007).

87 Além disso, bactérias do gênero *Vibrio* são consideradas patógenos oportunistas e deste
88 modo, podem causar enfermidades em animais, seja de forma primária ou secundária (De la
89 Pena et al., 1993).

90 As bactérias da família Enterobacteriaceae já foram destacadas como importantes agentes
91 no ecossistema aquático, sendo sua presença detectada através de exames da pele, brânquias e
92 intestinos de peixes, podendo estar envolvida como agente etiológico primário,
93 desencadeando epizootias na piscicultura, quando há um desequilíbrio no sistema bactéria-
94 hospedeiro-ambiente (Huber et al., 2004).

95 Em função da importância de diagnóstico de doenças na atividade piscícola e da carência
96 no que diz respeito a trabalhos referentes à ocorrência de bacterioses nas tilápias cultivadas no
97 Nordeste, objetivou-se detectar lesões anatomopatológicas em animais com sinais clínicos de

98 enfermidade, associando-se com a diversidade de gêneros bacteriológicos identificados em
99 tilápias coletadas em diferentes sistemas de cultivo no estado de Pernambuco.

100

101

Material e Métodos

102 Tilápias da espécie *Oreochromis niloticus* foram adquiridas de seis propriedades do estado
103 de Pernambuco, em que três utilizaram o sistema de cultivo em viveiros de terra e três em
104 tanques-rede. O tempo de cultivo empregado nessas propriedades, foi de aproximadamente
105 cinco meses, utilizando densidade de estocagem média de 3 a 10,85 peixes/m³, nos cultivos
106 em viveiro e de 50 a 100 peixes/m³, nos cultivos em tanques-rede. As tilápias coletadas foram
107 obtidas nas estações de verão (estiagem) e inverno (chuvoso), no período de outubro de 2007
108 a dezembro de 2008, totalizando 58 indivíduos.

109 Os peixes foram transportados vivos sob aeração constante e levados ao Laboratório de
110 Sanidade de Animais Aquáticos (Lasaq), da Universidade Federal Rural de Pernambuco
111 (UFRPE), onde foram anestesiados com benzocaína (100 mg/L) e a eutanásia realizada por
112 secção medular. Os exemplares coletados, apresentaram peso variando de 80,31 g a 1256 g e
113 um comprimento total variando de 16,1 cm a 42cm.

114 Após a eutanásia, os peixes foram examinados macroscopicamente e submetidos à
115 necropsia, onde se coletaram amostras de fígado, rim, encéfalo e brânquias para as análises
116 bacteriológicas e fragmentos de fígado, baço e coração para exame histopatológico, realizado
117 no laboratório Maria Ignez Cavalcante da Área de Patologia Animal do Departamento de
118 Medicina Veterinária.

119 Exame macroscópico e necropsia

120 No exame macroscópico, os peixes foram avaliados quanto ao aspecto morfológico, sendo
121 utilizada uma escala de lesões, de acordo com a severidade (de 0 – ausência total de lesão a 3
122 – lesão mais severa). Os olhos foram avaliados com relação à presença de exoftalmia,

123 endoftalmia, hemorragias, opacidade ocular. Na superfície corporal e opérculo observaram-se
124 perda de escamas (grau 1), presença de erosões discretas (grau 2) até ulcerações (grau 3). Nas
125 nadadeiras foram avaliadas com relação à presença de erosões leves sem hemorragias (grau
126 1), erosões moderadas com hemorragia (grau 2) e inflamação intensa (grau 3). Nas brânquias
127 foram atribuídas pontuações em relação ao grau de congestão e se estavam anêmicas.

128 A necropsia foi realizada segundo recomendações de Shaperclaus (1992), com abertura
129 lateral esquerda e os órgãos observados quanto à coloração, tamanho, aspecto, derrames
130 cavitários e subsequente coleta de material para análises bacteriológicas e histopatológicas.
131 Todas as anotações do exame macroscópico e necropsia, foram coligidas no questionário de
132 necropsia, em anexo.

133 **Análise bacteriológica**

134 Durante a necropsia, foram coletadas assepticamente, amostras de encéfalo, rim, fígado e
135 brânquias para isolamento dos principais gêneros de bactérias associados a bacterioses em
136 tilápias, como as bactérias dos gêneros *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, víbrios e do
137 grupo das enterobactérias.

138 Os microrganismos do gênero *Aeromonas* foram pesquisados a partir de inoculação em
139 Água Peptonada e em Ágar Amido com 20 µg/mL de ampicilina, com incubação a 28 °C por
140 24 horas. A identificação foi feita através de provas bioquímicas convencionais, conforme
141 citado por Martins et al. (2008).

142 A pesquisa de *Pseudomonas* foi realizada com a inoculação das amostras em tubos
143 contendo Caldo Asparagina, seguindo-se de incubação a 35°C, por até 96 horas. A partir da
144 positividade (coloração turvo-esverdeada), foram repicadas para placas contendo Ágar
145 Cetrimide, incubadas a 35°C por 48 horas. As colônias características foram repicadas, por
146 esgotamento, para Ágar Leite e incubadas a 35°C por 48 horas, sendo o desenvolvimento

147 caracterizado por coloração esverdeada, confirmativo para a presença de *Pseudomonas*
148 *aeruginosa* (Maia et al., 2009).

149 Para a pesquisa de *Streptococcus*, as amostras foram semeadas em Blood Ágar Base
150 suplementado com 5% de sangue ovino desfibrinado e incubadas a 29°C durante cinco dias.
151 Após o período de incubação, a identificação dos microrganismos foi efetuada segundo as
152 características culturais, morfológicas, tintoriais e bioquímicas (Figueiredo et al., 2006).

153 Os isolamentos de víbrios foram realizados a partir de inoculação em Ágar Tiosulfato
154 Citrato Sais de Bile Sacarose (TCBS) e em Água Peptonada Alcalina – APA e incubados em
155 estufa a 35-37 °C por 24 horas. As colônias características foram repicadas para Agar
156 Trypticase soja (TSA), a partir da qual foram submetidas ao estudo do perfil bioquímico,
157 conforme a orientação de Saavedra et al. (2004).

158 Para isolar enterobactérias, as amostras foram inoculadas em Ágar Eosin Methylene Blue
159 Agar (EMB) e em Caldo Brain Heart Infusion Broth (BHI) e incubadas a 37 °C por 24-48
160 horas. A identificação foi realizada segundo características culturais, morfológicas, tintoriais e
161 através de provas bioquímicas convencionais (Martins et al., 2008).

162 **Exame histopatológico**

163 Fragmentos de fígado, baço e coração, coletados no ato da necropsia, foram fixados em
164 solução de formol a 10% (Santos et al., 2005) e em seguida transferidos para uma solução de
165 álcool etílico a 70%.

166 O material fixado foi submetido a uma bateria de desidratação, diafanização, impregnação
167 e inclusão em parafina. O corte do bloco de tecido incluído em parafina foi realizado com
168 uma espessura de cinco micra, sendo corados por hematoxilina e eosina (Barcellos, 2008), e
169 pelo método de Azul da Prússia para diferenciação da hemossiderina dos demais pigmentos
170 de centros melanomacrófagos (Agius & Roberts, 2003).

171 As lâminas foram examinadas à microscopia óptica, sendo as alterações classificadas
172 individualmente, de acordo com o grau de severidade da lesão no tecido, utilizando-se a
173 escala de 0 a 3, onde o 0 foi atribuído à ausência total de lesão; 1 – lesão classificada como
174 discreta; 2 – moderada e 3 –intensa.

175 **Análise estatística**

176 Para análise comparativa das variáveis qualitativas, presença de bactérias e presença de
177 lesões, foi utilizado teste Qui-Quadrado de independência, com correção de Yates, sendo
178 todas as conclusões tomadas ao nível de significância de 5% (Calado & Lima, 2004).

179 Para correlacionar a variável peso dos animais com as demais variáveis, foi proposto o
180 modelo matemático:

$$181 P^\lambda = \beta_0 + \beta_1 \text{Faz} + \beta_2 \text{DE} + \beta_3 \text{TC} + \beta_4 \text{Aero} + \beta_5 \text{Vib} + \beta_6 \text{Enter} + \beta_7 \text{Strep} + \beta_8 \text{Pseu} + \beta_9 \text{comp} + \varepsilon$$

182 Em que: P^λ – Peso dos animais, λ – fator transformação de Box e Cox; $\beta_0, \beta_1, \beta_3, \dots, \beta_9$ -
183 parâmetros do modelo; Faz - fazendas; DE – densidade de estocagem; SC – sistema de cultivo
184 ;Aero – Presença de *Aeromonas*; Vibri – Presença de *Vibrio*; Enter – Presença de
185 enterobactérias; Strep – Presença de *Streptococcus*; Pseu – Presença de *Pseudomonas*; comp –
186 comprimento corporal dos animais; ε - erro associado a cada observação.

187 Para estimar os parâmetros do referido modelo utilizou-se a técnica dos mínimos
188 quadrados e para selecionar as variáveis significativas ($P < 0,05$) do modelo o processo de
189 *Stepwise (forward)*, de acordo com Mendes et al. (2006). Todas as variáveis foram incluídas
190 no modelo sob a forma de variável muda (0 ou 1) com exceção da variável comprimento.
191 Associado ao processo de *Stepwise* foi utilizado o transformador de Box e Cox (Box & Cox,
192 1964), objetivando minimizar a variância experimental. Para realizar os cálculos utilizou-se o
193 pacote Estatístico SysEapro versão 1,0.

194

195

196

Resultados e Discussão

197 No total de 58 amostras analisadas, houve positividade para diversos microrganismos,
198 sendo os identificados apresentados na Tabela 1. Ressalta-se que não foram identificadas
199 *Streptococcus*, *Pseudomonas* e *Edwardsiella*.

200 Todos os gêneros de enterobactérias identificados, *Ewingella* spp., *Enterobacter* spp.,
201 *Klebsiella* spp., *Leminorella* spp., *Obesumbacterium* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp.,
202 *Salmonella* spp., *Shigella* spp., e *Taturnella* spp., são em sua maioria, associados com
203 contaminações ambientais, por isso foram colocados em um único grupo de enterobactérias
204 ao se analisar a correlação destes com a ocorrência de lesões.

205 Ao relacionar a presença de gêneros bacterianos nas amostras analisadas com as lesões
206 observadas, no exame macroscópico e no histopatológico, verificou-se dependência
207 significativa ($p < 0,05$) para um número pequeno de lesões, como, sendo observado o valor do
208 teste de Qui-quadrado com sua respectiva probabilidade de 5% (Tabela 2).

209 As lesões estatisticamente dependentes das positivities de bactérias tiveram uma
210 frequência de 29,4% (5 peixes) das 17 amostras com *Aeromonas* com brânquias anêmicas,
211 29,4% (5 peixes) com infiltrados eosinofílicos no fígado e 35,3% (6 peixes) com necrose no
212 fígado. Jiménez (2007) ressaltou que as infecções por bactérias desse gênero podem originar
213 uma septicemia típica de bactérias Gram-negativas, com ou sem surgimento de lesões na pele.

214 Myiazaki et al. (2001) observaram degeneração e necrose em órgão internos em *Cyprinus*
215 *carpio*, após infecção por *A. hydrophila*. A necrose hepática também foi citada por Barcellos
216 et al. (2008) em *Rhamdia quelen* exposta ao mesmo agente.

217 Alguns autores citaram que a bactéria *Aeromonas* pode iniciar a infecção através da
218 invasão de lesões na pele causadas por ectoparasitos, sendo frequentemente associado ao
219 ciliado *Epistylis* (Jiménez, 2007). Hazen et al. (1978) citaram que a *A. hydrophila* é o agente
220 etiológico primário de doença da peste vermelha e consideraram o *Epistylis* como um

221 patógeno secundário que rapidamente coloniza as lesões na derme iniciadas por enzimas
222 proteolíticas bacterianas.

223 Tendo em vista que não foi realizada análise parasitológica nas amostras, o relato de
224 Jiménez (2007) surge como uma possível explicação para a presença de infiltrados
225 eosinofílicos no fígado de amostras positivas para *Aeromonas*, uma vez que esse achado
226 histopatológico é característico da presença de parasitas. Ranzani-Paiva et al. (1999) alegaram
227 que a porcentagem alta de eosinófilos em peixes da espécie curimatá (*Prochilodus scrofa*),
228 pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) estaria relacionada à
229 ocorrência de protozoários.

230 Dentre os 17 casos com isolamento de enterobactérias, foram observadas diversas lesões,
231 com frequências variáveis de 13 peixes (76,5%) com lesões de diferentes graus nas
232 nadadeiras, seis (35,3%) de casos com miocardite, 35,3% (6) com necrose no fígado, oito
233 (47,1%) com infiltrados inflamatórios no fígado e cinco (29,4%) com necrose no pâncreas.

234 Foi verificada uma dependência significativa ($P < 0,05$) de ocorrência simultânea de
235 *Aeromonas* e enterobactérias, o que pode ter contribuído para o aparecimento de um número
236 maior de lesões em tais amostras. Convém salientar que tal resultado não descarta a
237 possibilidade das enterobactérias, mesmo sendo consideradas ambientais, causar danos aos
238 peixes, por encontrar em cultivos uma situação favorável para sua proliferação, como a
239 qualidade inadequada de água, o que tornaria os animais susceptíveis.

240 Germano et al. (1998) citaram que infecções por *Shigella* spp. se revestem de grande
241 importância, por elas serem encontradas em águas poluídas por esgotos ou fezes de animais.
242 Fattal et al. (1993) constataram que geralmente os peixes provenientes de viveiros com água
243 poluída eram contaminados por *Enterobacter* em níveis superiores aos cultivados em água
244 limpa.

245 As lesões histopatológicas observadas nos casos onde estavam envolvidas enterobactérias
246 e *Aeromonas* spp, apresentaram diferentes graus de intensidade, sendo o verificado apenas
247 lesões com grau 1 nos casos de necrose no fígado, necrose no pâncreas e infiltrado
248 eosinofílico no fígado. Nos casos com infiltrado inflamatório no fígado, as lesões se
249 apresentaram de grau 1 (nove casos), grau 2 (quatro casos) e grau 3 (dois casos). Na
250 miocardite, sete casos apresentaram lesões de grau 1 e quatro casos com grau 2.

251 Nos 24 casos em que foram isolados *Vibrio* spp, nove (37,5%) deles apresentaram lesões
252 de variados graus na superfície corporal e mesmo havendo dependência estatística da
253 presença de baço atrofiado com a positividade para *Vibrio* spp, não foi observado nenhum
254 caso nas amostras positivas, o que evidencia uma possível interação de outras variáveis
255 influenciando nesse resultado. A alteração observada no baço pode ser conseqüente do stress
256 crônico e/ou a convalescência, que podem provocar a depleção de glicogênio hepático e
257 redução do peso do baço (Wedemeyer, 1996).

258 Shaperclaus (1992) destacou que a vibriose é uma doença enzoótica de peixes com
259 registros no mundo inteiro, existindo duas formas clínicas, uma aguda caracterizada por uma
260 infecção generalizada e uma forma crônica onde são observadas infecções locais,
261 principalmente nas nadadeiras, musculatura e intestino, o que leva a crer que os animais
262 positivos para vibriose, no presente estudo, que apresentaram lesões na superfície corporal,
263 estavam acometidos pela forma crônica da doença. Southgate (1993) relatou que os peixes
264 mais velhos são mais acometidos pela forma crônica da doença, com lesões na superfície
265 corporal e destruição de tecidos internos em consequência da produção de toxina pela
266 bactéria. Ressalte-se que os animais do presente estudo eram adultos, em fase de abate.

267 Ao se relacionar o peso dos animais amostrados com as variáveis de fazendas envolvidas,
268 tipo de cultivo, densidade de estocagem, período do ano e comprimento corporal dos animais
269 coletados, foi constatado que os animais da fazenda D e da fazenda E, bem como os que

270 possuíam maiores comprimentos corporais, apresentaram um melhor ganho de peso e que este
271 ganho de peso foi menor no verão (estio), como pode ser observado na equação apresentada
272 abaixo.

$$273 \quad P = e^{2,9001+0,2659FD+0,0973FE+0,1099comp}$$

274 Em que: P – Peso dos animais, FD – Fazenda D; FE- fazenda E; ver – período de verão; comp
275 – comprimento total dos animais. $r^2 = 0,9486$.

276 Observa-se que os melhores ganhos de peso ocorreram nas fazendas D e E, onde os
277 animais foram cultivados em tanques-rede. Convém salientar que mesmo sob altas densidades
278 de estocagem, situação essa que não interferiu significativamente no ganho de peso dos
279 animais, há uma intensa renovação de água nos cultivos em tanques-rede, o que segundo Silva
280 et al. (2002), influencia significativamente no aumento da biomassa total.

281 A ocorrência de bactérias nas amostras não interferiu significativamente no ganho de peso
282 dos animais. Garcia (2008) em estudo com a mesma espécie (*Oreochromis niloticus*),
283 cultivadas em tanques-rede, associou as altas taxas de mortalidade observada no período de
284 verão à infecção oportunista causada pelas bactérias dos gêneros *Streptococcus* e *Aeromonas*,
285 enquanto que no inverno a taxa foi inferior a 1%.

286 No entanto, cultivos com períodos longos, como os observados no presente estudo,
287 transcorrem as estações climáticas, impossibilitando que uma estação seja apontada,
288 interferindo positiva ou negativamente no ganho de peso.

289 **Conclusões**

290 No estudo anatomopatológico e bacteriológico realizado conclui-se que:

- 291 • *Vibrio* foi o agente bacteriano de maior relevância neste estudo não se podendo
292 precisar se a infecção é de origem primária ou secundária;

- 293 • As demais alterações inespecíficas observadas são sugestivas de que podem ter como
294 etiologia as enterobactérias e *Aeromonas*, uma vez que houve uma dependência
295 significativa ($p < 0,05$) na ocorrência concomitante destas;
- 296 • Animais provenientes de fazendas de cultivo em tanques-rede, assim como os que
297 possuem maiores comprimentos corporais, apresentam um melhor ganho de peso.

298

299

Agradecimentos

300

301

302

303

304

Referências

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

AGIUS, C.; ROBERTS, R.J. Melano-machophage centres and their role in fish pathology. **Journal of Fish Diseases**, v.26, p.499-509, 2003.

BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; RODRIGUES, L.B.; SANTOS, L.R.dos; MOTTA, A.C.; RITTER, F.; BEDIN, A.C.; SILVA, L.B.da. *Aeromonas hydrophila* em *Rhamdia quelen*: aspectos macro e microscópico das lesões e perfil de resistência a antimicrobianos. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v.34, n.3, p.355-363, 2008.

BERRIDGE B.R., BERCOVIER H. & FRELIER P.F. Streptococcus agalactiae and Streptococcus difficile 16S-23S intergenic rDNA: genetic homogeneity and species-specific PCR. **Veterinary Microbiology**, v.78, p.165-173, 2001.

BOSCARDIN, N.R. A produção aquícola brasileira. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D.(Ed.). **Aquicultura no Brasil: O desafio é crescer**. Brasília, 2008. p.27-72.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformation. **Journal of Roy. Stat. Soc.**, Ser.B, v. 26, p. 211 – 243, 1964.

CALADO, S.S.; LIMA, M. do C.C. de A. e. Estudo morfológico dos fibroadenomas da mama: uma análise comparativa entre grupos etários. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v.40, n.6, p.411-419, dezembro 2004.

DE LA PENA, L.D.; TAMAKI, T; MOMOYAMA, K; NAKAI, T; MUROGA, K. Characteristics of the causative bacterium of vibriosis in the kururna prawn, *Penaeus japonicus*. **Aquaculture**, 115, p.l-12, 1993.

- 330 **FAO. The States of World Fisheries and Aquaculture 2008 – SOFIA: El estado mundial**
331 **de la pesca y la cuicultura. Roma: FAO, 2009. 196p.**
332
- 333 **FATTAL, B.; DOTAN, A.;CABELLI, V.J. Microbiological purification of fish in grown in**
334 **fecally contaminated commercial fish pond. Environ. Qual. Ecosystem Stab., v.27, p.303-**
335 **311, 1993.**
336
- 337 **FIGUEIREDO, H.C.P.; CARNEIRO, D.O., FARIA, F.C., COSTA, G.M.. Streptococcus**
338 **agalactiae associado à meningoencefalite e infecção sistêmica em tilápia-do-nilo**
339 **(Oreochromis niloticus) no Brasil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.58, n.4, p.678-680, 2006.**
340
- 341 **FIRETTI, R.; SALES, D.S. O futuro promissor da cadeia produtiva da piscicultura comercial.**
342 **AnualPec2004, p. 305-307, 2004.**
343
- 344 **GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S.; OLIVEIRA, C.A.F. Aspectos da qualidade do**
345 **pescado de relevância para saúde pública. Hig.Alim., v.12, p.30-37, 1998.**
346
- 347 **HAZEN, T.C.; FLIERMANS, C.B.; HIRSCH, R.P.; ESCH, G.W. Prevalence and distribution**
348 **of Aeromonas hydrophila in the USA. Journal of. Applied and Environmental**
349 **Microbiology, v.36, p.731-738, 1978.**
350
- 351 **HUBER, I.; SPANGGAARD, B.; APPEL, K.F.; ROSSEN, L.; NIELSENAND, T.; GRAM,**
352 **L. Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of**
353 **rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum). J. Appl. Microbiol, v.96, p.117, 2004.**
354
- 355 **JIMÉNEZ, R. Enfermidades de tilapia em cultivo. Edición de La Universidad de Guayaquil**
356 **Facultad de Ciencias Naturales. Guayaquil, Ecuador, 2007. 108 p.**
357
- 358 **MAIA, A. de A.; CANTISANI, M.L.; ESPOSTO, E. de M.; SILVA, W.C.P.; RODRIGUES,**
359 **E.C. dos P.; RODRIGUES, D. dos P.; LÁZARO, N. dos S. Resistência antimicrobiana de**
360 **Pseudomonas aeruginosa isolados de pescado e de cortes e de miúdos de frango. Ciênc.**
361 **Tecnol. Aliment., Campinas, v.29, n.1, p.1-6, 2009.**
362
- 363 **MARTINS, M.L.; MIYAZAKI, D.M.Y.; MOURIÑO, J.L.P. Aeromonas caviae durante surto**
364 **de mortalidade em tilápia do Nilo e suplementação com vitamina C na dieta. B. Inst. Pesca,**
365 **São Paulo, v.34, n.4, p. 585-590, 2008.**
366
- 367 **MENDES, P. de P.; MENDES, E.S.; BEZERRA, A.M. Análise estatística dos parâmetros**
368 **aquícolas, com fins a otimização da produção. Anais de simpósios da 43ª reunião anual da**
369 **SBZ, João Pessoa - PB, v.35, 2006.**
370
- 371 **MIYAZAKI, T.; KAGEYAMA, T.; MIURA, M.; YOSHIDA, T. Histopathology of viremia-**
372 **associated ana-aki-byo in combination with Aeromonas hydrophila in color carp Cyprinus**
373 **carpio in Japan. Diseases of Aquatic Organisms, v.44, p.109-120, 2001.**
374
- 375 **RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SALLES, F.A.; EIRAS, J.C.; EIRAS, A.C.das; ISHIKAWA,**
376 **C.M.; ALEXANDRINO, A.C. Análises hematológicas de curimatá (Prochilodus scrofa),**
377 **pacu (Piaractus mesopotamicus) e tambaqui (Colossoma macropomum) das estações de**

- 378 piscicultura do Instituto de pesca, estado de São Paulo. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v.25, p.77 -
379 83, 1998/1999.
- 380
- 381 SAAVEDRA, M.J.; BRITO, R.D.; SOUSA, M.; ALVES, A.; REMA, P. Isolamento de
382 *Pasteurella* spp. e *Vibrio* spp. em robalos (*Dicentrarchus labrax*). Susceptibilidade a
383 diferentes grupos de antibióticos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.56, n.2, p.277-279, 2004.
- 384
- 385 SANTOS, A.A.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; FELIZARDO, N.N.; RODRIGUES, E. de L.
386 Análise histopatológica de fígado de tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-
387 rede na represa de Guarapiranga, São Paulo. **Bol. Inst. Pesca**, v.30, n.2, p.141-145, 2005.
- 388
- 389 SHAPERCLAUS, W. **Fish diseases**. Rotterdam:Balkema, 1992. 594p.
- 390
- 391 SHOEMAKER, C.A.; EVANS, J.J.; KLESIUS, P.H. Density and dose: factors affecting
392 mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.188,
393 p.229-235, 2000.
- 394
- 395 SILVA, P.C.; KRONKA, S. do N.; TAVARES, L.H.S.; SOUZA, V.L. Desempenho
396 produtivo da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes densidades e trocas de
397 água em “raceway”. **Acta Scientiarum**, v.24,n.4, p.935-941, 2002.
- 398
- 399 SOUTHGATE, P. Disease in Aquaculture. In: BROWN, L. (Ed). **Aquaculture for**
400 **Veterinarians: fish husbandry and medicine**. Pergamon Press, Oxford, England, 1993.
401 p.91-130.
- 402
- 403 SUANYUK, N.; KANGHEAR, H.; KHONGPRADIT, R.; SUPAMATTAYA, K.
404 *Streptococcus agalactiae* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Songklanakarin**
405 **Journal Science and Technology**, v.27, p.307-319, 2005.
- 406
- 407 WEDEMEYER, G.A. **Physiology of fish in intensive culture systems**. Edition: illustred.
408 Publicado por Springer, p.50-51. 1996.
- 409

410
411
412
413
414**Tabelas e Figuras**Tabela 1. Gêneros bacterianos isolados em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em Pernambuco com suas respectivas frequências.

Gêneros	Frequência
<i>Aeromonas</i>	17 (29,3%)
<i>Vibrio</i>	24 (41,4%)
<i>Ewingella</i>	1 (1,7%)
<i>Enterobacter</i>	2 (3,45%)
<i>Klebsiella</i>	10 (17,2)
<i>Leminorella</i>	1 (1,7%)
<i>Obesumbacterium</i>	3 (5,2%)
<i>Proteus</i>	1 (1,7%)
<i>Providencia</i>	11 (19%)
<i>Salmonella</i>	1 (1,7%)
<i>Shigella</i>	1 (1,7%)
<i>Taturnella</i>	8 (14%)

415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426

427 Tabela 2. Lesões observadas em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em
 428 Pernambuco associadas com os gêneros bacterianos identificados.

Lesão	Bactéria	χ^2	P (χ^2)
Brânquias anêmicas	<i>Aeromonas</i>	4,7001	0,03016151
Necrose (fígado)	<i>Aeromonas</i>	5,199634	0,02259164
Infiltrado eosinofílico (fígado)	<i>Aeromonas</i>	6,742716	0,00941312
Lesões na superfície corporal	<i>Vibrio</i>	7,209718	0,00725099
Baço atrofiado	<i>Vibrio</i>	4,39437	0,03605778
Lesões nas nadadeiras	Enterobactérias	3,897626	0,04835441
Miocardite	Enterobactérias	4,301267	0,03808399
Necrose (fígado)	Enterobactérias	5,199634	0,02259164
Necrose (pâncreas)	Enterobactérias	4,700063	0,03016151
Infiltrado inflamatório (pâncreas)	Enterobactérias	5,242603	0,02204028

429

430

431

432

433

434

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Adicionalmente, recomenda-se trabalhar em casos isolados de gêneros bacterianos, para que as lesões possam ser devidamente atribuídas a determinado gênero, não havendo possibilidade de existir outras variáveis interferindo nessa correlação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRINO, A.C.; OKUMURA, M.P.M.; BALDASSI, L.; TABATA, Y.A.; PAULI, O.S.; ARAÚJO, A.P.; ROSA, M.B R.D. Ocorrência de infecção por *Edwardsiella tarda* em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em cultivo intensivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.25, p.121-123, 1998/1999.

AL-HARBIT, A. H.; UDDIN, N. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia. **Aquaculture**, n.229, p. 37–44, 2004.

AL-HARBIT, A. H.; UDDIN, N. Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia. **Aquaculture**, n.250, p.566-572, 2005.

AOKI, T. 1999 Motile aeromonads (*Aeromonas hydrophila*). In: WOO, P.T.K.; BRUNO, D.W. (Ed.) **Fish diseases and disorders**. Oxon: CABI Publ., v.3: Viral, bacterial and fungal infections, 1999. cap.11, p.247-453.

BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; RODRIGUES, L.B.; SANTOS, L.R.dos; MOTTA, A.C.; RITTER, F.; BEDIN, A.C.; SILVA, L.B.da. *Aeromonas hydrophila* em *Rhamdia quelen*: aspectos macro e microscópico das lesões e perfil de resistência a antimicrobianos. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v.34, n.3, p.355-363, 2008.

BENLI, A. C. L. K.; YILDIZ, H. Y. Blood parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*L.) spontaneously infected with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture Research**, v.35, p.1388-1390, 2004.

BERRIDGE B.R., BERCOVIER H. & FRELIER P.F. *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus difficile* 16S-23S intergenic rDNA: genetic homogeneity and species-specific PCR. **Veterinary Microbiology**, v.78, p.165-173, 2001.

BOSCARDIN, N.R. A produção aquícola brasileira. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: O desafio é crescer**. Cap.1, p.27-72. Brasília, 276p.:il. 2008.

BOSCOLOL, W. R.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, M.; MEUER, F. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.5, p. 1391-1396, set./out. 2001.

BROWN, L. **Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine**. USA: Pergamon Press, 447p., 1993.

CASTAGNOLLI, N.; CYRINO, J. E. P. **Piscicultura nos trópicos**. São Paulo: Manole, 152p. 1986.

CECCARELLI, P. S.; ROCHA, R. de C. G. A. **Principais enfermidades de peixes tropicais e respectivos controles**. Lavras: UFLA/FAEPE, 91p., 2001.

CHANG, P. H.; PLUMB, J. A. Histopathology of experimental *Streptococcus* sp. infection in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.)⁹ and channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). **Journal of Fish Diseases**, v.19, p.235-241, 1996.

DAL PUPO, H. D. **Diversidade da microbiota gram-negativa em sistemas de cultivo de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2006. 42p. Dissertação (Mestrado)- UFLA, Lavras.

ELDAR, A.; BEJERANO, Y.; LIVOV, A.; HOROVITCZ, A. BERCOVIER, H. Experimental streptococcal meningo-encephalitis in cultured fish. **Veterinary Microbiology**, v. 43, p. 33-40, 1995.

ESPAÑA. Ministerio da Agricultura, Pesca y Alimentación. Factibilidad del cultivo de tilapia en Mallorca. Disponível em: http://www.mapa.pesca/publicaciones/publi_recientes.htm. Acesso em 15 de jun. de 2009.

EWING, W.H.; MCWHORTER, A.C.; ESCOBAR, M.R.; LUBIN, A.H. Edwardsiella, a new genus of Enterobacteriaceae based on a new species, *E. tarda*. **Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon**. v.15, p.33-38, 1965.

FAO. **The States of World Fisheries and Aquaculture 2006 – SOFIA**: El estado mundial de la pesca y la cuicultura. Roma: FAO, 2007. 180p.

FAO. **The States of World Fisheries and Aquaculture 2008 – SOFIA**: El estado mundial de la pesca y la cuicultura. Roma: FAO, 2009. 196p.

FIGUEIREDO, H. C. P. ; GODOY, D. T. ; MIAN, G. ; LEAL, C. A. G. . Estreptococose em tilápia do Nilo - parte 2. Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro, p. 42-45, 01 nov. 2007.

FITZSIMMONS, K. Tilápia: the most important species of the aquaculture. Rio de Janeiro: **Anais. Panorama da Aquicultura**, v.2, p.545-551, 2000.

FOUZ, B.; ALCAIDE, E.; BARRERA, R.; AMARO, C. Susceptibility of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to vibriosis due to *Vibrio vulnificus*, biotype 2 (serovar E). **Aquaculture**, n. 212, p. 21–30, 2002.

FREITAS, J. V. F.; GURGEL, J. J. S. Estudos experimentais sobre a conservação da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L., 1766) Trewavas, armazenada em gelo. **B. Téc. DNOCS**, Fortaleza, v.42, n.2, p.153-178, jul./dez., 1984.

FRERICHS, G.N. Bacterial diseases of marine fish. **Vet Rec.**, v.125, p.315-318, 1989.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S.; OLIVEIRA, C. A. F. Aspectos da qualidade do pescado de relevância para saúde pública. **Hig.Alim.**, v.12, p.30-37, 1998.

HAWKE, J.P. A bacterium associated of pond cultured Channel catfish. **J. of the Fisheries Res. Board of Canada**, v.36, p.1508-1512, 1979.

HUBER, I.; SPANGGAARD, B.; APPEL, K.F.; ROSSEN, L.; NIELSENAND, T.; GRAM, L. Phylogenetic analysis and *in situ* identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). **J. Appl. Microbiol.**, v.96, p.117, 2004.

IBAMA. **Estatísticas de Pesca**, MMA. Brasília, 2005. 137p.

INOCENTE FILHO, C. **Inoculação de *Streptococcus* spp, não hemolítico do grupo B de Lancefield, em Tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

JIMÉNEZ, R. **Enfermidades de tilapia em cultivo**. Edición de La Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Naturales. Guayaquil, Ecuador, 2007. 108 p.

KUBITZA, F. Antecipando-se às doenças na tilapicultura. **Panorama da Aqüicultura**, e.89, p.13-18, Maio/Junho 2005.

MARTINS, M. L. **Doenças infecciosas e parasitárias de peixes com chave para a identificação de patógenos**. 2.Ed., Jaboticabal: Funep, 1998. 66p.

MORRISON, C. M.; FITZSIMMONS, K.; WRIGHT JR., J. R. **Atlas of tilapia histology**. United States: World Aquaculture Society, 2006. 96p.

MURATORI, M. C. S.; MARTINS, N. E.; PEIXOTO, M. T. D.; OLIVEIRA, A. L.; RIBEIRO, L. P.; COSTA, A. P. R.; SILVA, M. C. C.; LEITE, R. C. Mortalidade por “septicemia dos peixes tropicais” em tilápias criadas em consorciação com suínos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.53,n.6, p.658-662, 2001.

NOGA, E. J. **Fish disease: diagnosis and treatment**. Missouri: Mosby, 1995. 367p.

NUNES, A. M. N. Qualidade do pescado é fator primordial para o prestígio do setor. **Hig. Alim.**, v.8, p. 6-8, 1994.

OIE (2009). World Organisation for Animal Health. Animal diseases data. OIE Listed diseases. Disponível em: http://www.oie.int/eng/maladies/en_classification2009.htm?e1d7. Acesso em: 18 de jun de 2009.

PADRÓS, F.; FURONES, M. D. Patología bacteriana em piscicultura. **Actualidad SEM**, v.34, p.13-21, Dez/2002.

PALUMBO, S. A. The *Aeromonas hydrophila* group in food. In: AUSTIN, B.; ALTWEEG, M.; GOSLING, P.J.; JOSEPH, P. **The Genus Aeromonas**. John Wiley and Sons. Chichester, 1996. p. 287–310.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. da C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: EDUEM – Nupélia, 1998. 264p.

PLUMB, J.A. *Edwardsiella septicaemias*. In: WOO, P. T. K.; D.W. BRUNO. **Fish diseases and disorders: Viral, Bacterial and Fungal Infections**. Cab International, 1999. V.3.Cap.13, p.479-521.

ROBERTS, R. J. **Patologia de los peces**. Madrid: Ediciones mundi-prensa, 369p., 1981.

RODRIGUEZ, L. A.; ELLIS, A. E.; NIETO, T. P. Effects of the acetylcholinesterase toxin of *Aeromonas hydrophila* on the central nervous system of fish. **Microbial Pathogenesis**, v.14, p.411- 415, 1993.

SALVADOR, R. **Isolamento e caracterização de *Streptococcus* spp de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques rede e em viveiros de terra na Região Norte do Estado do Paraná, Brasil. A possível associação com a qualidade da água, sinais clínicos e lesões macroscópicas**. 2002. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina.

SHAMA, S.; BRANDAO, D. A.; VARGAS, A. C.; COSTA, M. M., PEDROSO, A. F. Bactérias com potencial patogênico nos rins e lesões externas de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados em sistema semi-intensivo. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 293-298. 2000.

SHAPERCLAUS, W. **Fish diseases**. Rotterdam:Balkema, 1992. v. 1. 594p.

SHOEMAKER C.A., EVANS J.J. & KLESIUS P.H. Density and dose: factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.188, p.229-235, 2000.

SUANYUK N., KANGHEAR H., KHONGPRADIT R. & SUPAMATTAYA K. *Streptococcus agalactiae* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Songklanakarinn Journal Science and Technology**, v.27, p.307-319, 2005.

THUNE, R.L.; STANLEY, L.A.; COOPER, R.K. Pathogenesis of gram-negative bacterial infections in warmwater fish. **Annual Reviews of Fish Diseases**, v. 3, p.37-68, 1993.

VAN DAMME, L.R.; VANDERPITTE, J. Frequent Isolation of *Edwardsiella tarda* and *Plesiomonas shigelloides* from Healthy Zairese Freshwater Fish: a Possible Source of Sporadic Diarrhea in the Tropics. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 475-479,1980.

YANONG R.P.E. & FRANCIS-FLOYD R. **Streptococcal infections of fish**. 2006. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/FA057>. Acesso em: 20 de jan. de 2009.

7. ANEXO

7.1 Questionário de visitas

1. IDENTIFICAÇÃO DA PROPRIEDADE

Nome	
Proprietário	
Endereço	
Localização	
Tamanho	
Forma de cultivo	
Nível de poluição	
Tempo de funcionamento	
Técnico responsável	

2. MANEJO

2.1. AQUISIÇÃO DE ALEVINOS

a) Local de aquisição	
b) Idade	
c) Época da aquisição	
d) Teste de qualidade	
e) tempo de transporte	
f) Detectou anomalia?	

2.2. TANQUE BERÇÁRIO

a) Tamanho	
b) Densidade de estocagem	
c) Alimento	
d) Frequência alimentar	
e) Fertilizantes	
f) Medicamentos	
g) Tempo de cultivo	
h) Sobrevivência	
i) Aeração (HP/tanque)	

2.3. VIVEIRO DE ENGORDA

a) Tamanho	
b) Densidade de estocagem	
c) Renovação de água (taxa)	
d) Fertilizantes	Tipo Frequência
e) Calagem	Tipo Frequência
f) Alimento	
g) Forma de arraçoamento	
h) Frequência alimentar	
i) Comedouros/há	
j) Probiótico	
k) Imunoestimulante	
l) Medicamentos	
m) Tempo de cultivo	
n) Sobrevivência	

o) Aeração (HP/viveiro)	
-------------------------	--

2.1. CONTROLE DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Parâmetros	Diário	Semanal	Quinzenal	Mensal
a) Oxigênio				
b) Temperatura				
c) pH				
d) Salinidade				
e) Transparência				
f) Amônia				
g) Nitrito				
h) Nitrato				
i) Fósforo				
j) N total				
k) DBO				
l) Sólidos em suspensão				

2.2. CONTROLE DE PARÂMETROS BIOLÓGICOS

Parâmetros	Diário	Semanal	Quinzenal	Mensal
a) Fitoplâncton				
b) Zooplâncton				
c) Bacteriológico				

2.6. ACOMPANHAMENTO**2.6.1. BIOMETRIA**

a) Freqüência	
b) Destino amostrados	
c) Método	

2.6.2. ASPECTO SANITÁRIO

a) Análise	
b) Freqüência	
c) Destino animais doentes	
d) Mortalidade	

2.6.3. BIOSSEGURIDADE

a) Higienização dos equipamentos	
b) Controle de fluxo	
c) Presença de animais domésticos	
d) Controle de pragas	
e) Rodolúvio	
f) Pedilúvio	
g) EPI	

2.7. ASSEPSSIA / DESINFECÇÃO**2.7.1. BERÇÁRIO**

a) Freqüência	
b) Forma de aplicação	
c) Produtos	

2.7.2. VIVEIRO

a) Freqüência	
b) Forma de aplicação	
c) Produtos	

7.2 Ficha de Necropsia

FICHA DE NECRÓPSIA																	
Nº de cadastro:		Propriedade:			Proprietário:				Endereço:								
Nº viveiros na propriedade:			Sistema de captação de água:			Nº do viveiro:		Área do viveiro:.....m ²			População de peixes no viveiro:				Observações:		
Nº da amostra	Compr. (cm)	Peso (g)	Fc	Olhos	Brânquias	Nadadeira	Opérculo	Gordura visceral	Baço	Intestino	Rim	Figado	Bile	Sexo	Hem.	Leuco.	Prot.plasm
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	
13																	
14																	
15																	
16																	
17																	
18																	
19																	
20																	

Data:

Assinatura do responsável pelas informações:.....

7.3 Normas da Revista

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos e não podem ter sido encaminhados a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

A Comissão Editorial faz análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como: escopo; apresentação do artigo segundo as normas da revista; formulação do objetivo de forma clara; clareza da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; resultados com contribuição significativa; discussão dos fatos observados frente aos descritos na literatura; qualidade das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério só é aplicado aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas, Novas Cultivares e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor. Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

O texto deve ser digitado no editor de texto Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, margens de 2,5 cm, com páginas e linhas numeradas.

Acesso aos itens:

APRESENTAÇÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO

Título

Autores

Resumo

Termos

para

indexação

Introdução

Material

e

Métodos

Resultados

e

Discussão

Conclusões

Agradecimentos

Referências

Citações

Fórmulas,

expressões

e

equações

matemáticas

Tabelas

Figuras

NOTAS

CIENTÍFICAS

NOVAS

CULTIVARES

OUTRAS INFORMAÇÕES

Apresentação do artigo científico

O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível. A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma: Artigos em português – Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

Artigos em inglês – Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Material and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

Artigos em espanhol – Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Material y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

Título

- * Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.
- * Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- * Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como "efeito" ou "influência".
- * Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.
- * Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.
- * As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Nomes dos autores

- * Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção "e", "y" ou "and", no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.
- * O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à respectiva chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

- * São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.
- * Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.
- * Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

- * O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- * Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- * Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos empregados na pesquisa, os resultados e a conclusão.
- * O objetivo deve estar separado da descrição de material e métodos.
- * Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- * O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

- * A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- * Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- * Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- * Não devem conter palavras que componham o título.
- * Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.

Introdução

- * A palavra Introdução deve ser centralizada na página e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- * Deve ocupar, no máximo, duas páginas.
- * Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- * O último parágrafo deve expressar o objetivo, de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

- * A expressão Material e Métodos deve ser centralizada na página e grafada em negrito; Os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- * Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- * Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- * Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- * Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- * Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- * Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- * Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.
- * Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.
- * Pode conter tabelas e figuras.

Resultados e Discussão

- * A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada na página e grafada em negrito; Os termos Resultados e Discussão devem ser grafados com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

- * Deve ocupar quatro páginas, no máximo.
- * Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- * As tabelas e figuras são citadas sequencialmente.
- * Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos frente aos apresentados por outros autores.
- * Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- * Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.
- * As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- * Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- * As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

- * O termo Conclusões deve ser centralizado na página e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- * Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo, e elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- * Não podem consistir no resumo dos resultados.
- * Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- * Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

- * A palavra Agradecimentos deve ser centralizada na página e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- * Devem ser breves e diretos, iniciando-se com "Ao, Aos, À ou Às" (pessoas ou instituições).
- * Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

- * A palavra Referências deve ser centralizada na página e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- * Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- * Devem ser normalizadas de acordo com as normas vigentes da ABNT.
- * Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- * Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- * Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- * Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- * Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- * Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)
 AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

- Artigos* *de* *periódicos*
 SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.
- Capítulos* *de* *livros*
 AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.
- Livros*
 OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).
- Teses* *e* *dissertações*
 HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Fontes* *eletrônicas*
 EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste: relatório do ano de 2003**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: <http://www.cpa0.embrapa.br/publicacoes/ficha.php?tipo=DOC&num=66&ano=2004>. Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

- * Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados.
 - * A autocitação deve ser evitada.
- Redação das citações dentro de parênteses*
- * Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.
 - * Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.
 - * Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.
 - * Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.
 - * Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.
 - * Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão "citado por" e da citação da obra consultada.
 - * Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.
- Redação das citações fora de parênteses*
- * Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- * Fórmulas, expressões, símbolos ou equações matemáticas, escritas no editor de equações do programa Word, devem ser enviadas também em arquivos separados, no programa Corel Draw, gravadas com extensão CDR.
- * No texto, devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.
- * Não devem apresentar letras em itálico ou negrito.

Tabelas

- * As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após referências.
- * Devem ser auto-explicativas.
- * Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- * Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- * O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.
- * No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.
- * Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.
- * Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.
- * Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.
- * Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.
- * Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares.
- * Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.
- * As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.

Notas de rodapé das tabelas

- * Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- * Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- * Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ^{ns} (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

- * São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- * Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- * O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- * Devem ser auto-explicativas.
- * A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.
- * Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.
- * Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- * O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração.
- * As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.
- * Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- * Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.
- * As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- * Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.
- * Devem ser gravadas no programa Word, Excel ou Corel Draw (extensão CDR), para possibilitar a edição em possíveis correções.
- * Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- * No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- * Não usar negrito nas figuras.
- * As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- * Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

Notas Científicas

- * Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico completo.

Apresentação de notas científicas

- * A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras. As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:
- * Resumo com 100 palavras, no máximo.
- * Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.
- * deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

Novas cultivares

* Novas Cultivares são breves comunicações de cultivares que, depois de testadas e avaliadas pelo Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA), foram superiores às já utilizadas e serão incluídas na recomendação oficial.

Apresentação de novas cultivares
Deve conter: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, título em inglês, Abstract, Introdução, Características da Cultivar, Referências, tabelas e figuras. As normas de apresentação de Novas Cultivares são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:

- * Resumo com 100 palavras, no máximo.
- * Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.
- * deve apresentar, no máximo, 15 referências e quatro ilustrações (tabelas e figuras).
- * A introdução deve apresentar breve histórico do melhoramento da cultura, indicando as instituições envolvidas e as técnicas de cultivo desenvolvidas para superar determinado problema.
- * A expressão Características da Cultivar deve ser digitada em negrito, no centro da página.
- * Características da Cultivar deve conter os seguintes dados: características da planta, reação a doenças, produtividade de vagens e sementes, rendimento de grãos, classificação comercial, qualidade nutricional e qualidade industrial, sempre comparado com as cultivares testemunhas.

Outras informações

- Não há cobrança de taxa de publicação.
- Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.
- O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.
- São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.
- Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.
- **Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61)3448-4231 e 3273-9616, fax: (61)3340-5483, via e-mail: pab@sct.embrapa.br ou pelos correios: Embrapa Informação Tecnológica, Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB, Caixa Postal 040315, CEP 70770-901 Brasília, DF.**