

Orbino Alberto Guambe

**Profilaxia dietária e banho terapêutico em juvenis de jundiá
(*Rhamdia quelen* e *R. branneri*) na infestação de *Ichthyophthirius*
*multifiliis***

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Dr. Evoy Zaniboni Filho
Coorientadora: Dra. Janaína dos Santos Pedron

Florianópolis
2017

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

Guambe, Orbino Alberto

Profilaxia dietária e banho terapêutico em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen* e *R. branneri*) na infestação de *Ichthyophthirius multifiliis* / Orbino Alberto Guambe ; orientador, Evoy Zaniboni Filho, coorientadora, Janaína dos Santos Pedron, 2017.

86 p.

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

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. imersão. 3. ictiofitiríase. 4. toltrazuril. 5. bio germex. I. Filho, Evoy Zaniboni . II. Pedron, Janaína dos Santos . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

**Profilaxia dietária e banho terapêutico em juvenis de jundiá
(*Rhamdia quelen* e *R. branneri*) na infestação de *Ichthyophthirius
multifiliis***

Por

ORBINO ALBERTO GUAMBE

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

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



Profa. Leila Hayashi, Dra.
Coordenadora do PPG em Aquicultura

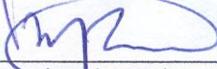
Banca Examinadora:



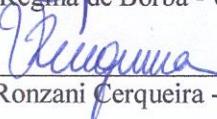
Dr. Evoy Zaniboni Filho – *Orientador*



Alex Pires de Oliveira Nuñez - UFSC



Dra. Maude Regina de Borba - UFFS,



Dr. Vinicius Ronzani Cerqueira - UFSC

Dedico este trabalho a familia Guambe, Saete e Bouque

Agradecimento

Dou muita Graça a Deus por ter me concedido muita força e esperança, até chegar a esta fase do curso porque este é o caminho da vitória.

Ao meu orientador Evoy, agradeço pela oportunidade, aceitação e disponibilidade para o meu triunfar no mundo acadêmico.

À coorientadora Dr^a Janaína dos Santos Pedron, com muito zelo e sábias palavras, contribuíram na elaboração deste importantíssimo documento.

Ao Dr. Giuliano Maia Huergo, Dr. Luciano Augusto, Dr^a. Josiane Ribolli muito obrigado pela força e parceria, de vós tirei uma lição de vida que não precisei de sentar me a carteira.

À Dr^a Natália Marchiori, Dr. Giuliano Maia Huergo e a doutoranda Karen Tancredo pelo fornecimento do BioGermex®, material biológico pré-experimental, ensinamento da técnica, procedimentos na identificação e contagem do parasito. Muito obrigado.

À todos professores do CCA em especial aqueles que desvendaram me os mistério da ciência e ao Carlito muito obrigado, continuem a mostrar a simplicidade e coerência no vosso ensinamento. E obrigado aos membros da banca por terem aceite a fazer parte deste trabalho.

À equipe técnica de LAPAD, ao Maurício, Ronaldo, Vinicius, Dr^a Samara Hermes, Dr^a Renata Guereschi Pedrão e Luan Aires, muito obrigado pela colaboração e apoio técnico, e estendo esse obrigado aos vigilantes Filipe, Edson, Deni, Cleber e aos demais não mencionados.

Endereço o meu muito obrigado ao meu tio Celso Francisco Saete por ter aberto o seu coração tão humilde, incentivando me abraçar os estudos. À minha mãe, irmãos, sobrinhos, tios, primos e em especial ao Gaspar e Celsinho que mesmo longe sempre preocuparam se pela minha saúde, muito obrigado.

Agradeço aos meus colegas docentes e dirigentes de ISPG, em especial ao Prof. Dr. Hortêncio Pedro Comissal, Eng. Lateiro de Sousa e Dr. Antônio Sefane, por terem me contemplado no plano de formação de estudo ao seus recursos humanos. Estendo o meu agradecimento a Dr^a Edna, Eng. Mikosa, Eng. Litos, Eng^a. Marisa, Eng. Chamissanga,

Dr.Daniel, Dr^aVasta, Dr^a.Telma, Dr^a Nilza, Dr^a Sónia, Dr^a Audete, Abineiro Mahithe e aos demais colegas não mencionados vai o meu obrigado.

Agradeço pela bolsa de estudo ao Instituto Superior Politecnico de Gaza- Chókwè-Moçambique através do Projecto NICHE/MOZ/150.

É com grande honra que dedico este trabalho ao meu ente querido amigo,irmão, conselheiro, professor, colega da escola e profissão, que junto triunfamos até que o altíssimo decidiu afastar lhe da face da terra Geraldo Monteiro Silveira, comigo ficou o seu legado “vamos beber a ciência porque ela é a chave do sucesso”.

Aos meus colegas do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura CCA: Vanessa Martins, Emilia, Diogo, Jamily, Susi, Lizi, Jade, Alexia, Elenice, Licon, Joaquim, Carlos, Carlos Blum, Leicy, Georgele, Greicy, Tânia, Leonardo Castigo, Allan, Bruno, Renata, Karen, Gabriel, agradeço pelo acolhimento e calor familiar. Estendo esse agradecimento aos colegas estagiários de Colômbia e de CCA no Lapad. Não me esqueço dos colegas da turma social Aime, Diogo, Rodrigo, Filipe obrigado pela companhia. A dona Maura por me acolher na sua república e ao Jean Magno pelo convívio muito obrigado.

Aos irmãos moçambicanos em Floripa, Jorge Banze, Sigauque, Alex, Baloi, Erza, Jonas, Luzitano, Saímo, Lousane, Cláudia, Hélio, Líli, Matiquite, Janú e aos demais agradeço pela irmandade. E estendo o obrigado ao irmão Hitiano Lunel pela convivência durante os 2 anos de formação.

Em memória de todos aqueles que direta ou indiretamente deram seu potencial para a realização do curso endereço o meu muito obrigado.

RESUMO

Ichthyophthirius multifiliis é um importante ectoparasito ciliado de distribuição cosmopolita, que resulta em perdas econômicas significativas na indústria aquícola. A produção de juvenis de jundiá está sendo comprometida pela infestação frequente do parasito *I. multifiliis*. Com objetivo de avaliar a sua eficiência no tratamento e/ou prevenção de ictiofitiríase, foram realizados dois experimentos: 1) banhos de imersão com diferentes concentrações de toltrazuril (Baycox®); 2) diferentes concentrações de biomassa cítrica (BioGermex®) ou toltrazuril incluído na dieta. Foram realizados banhos de imersão em quatro diferentes concentrações do produto: 0, 250, 500 e 750 mg toltrazuril/L em juvenis de *Rhamdia quelen* ($2,99 \pm 0,62$ g; $3,01 \pm 0,157$ cm). As concentrações usadas foram determinadas por meio de teste de tolerância usando a mesma metodologia experimental, porém sem que os indivíduos estivessem infestados. Foram realizados três banhos sequenciais com duração de 4 h, com intervalo de 24 h entre eles. O experimento teve duração total de 192 h. Para os indivíduos infestados no primeiro banho, a concentração de 0 mg/L resultou em maior número de trofontes (821 ± 273) em relação às demais concentrações testadas, seguido da concentração 250 mg/L (702 ± 161). As concentrações de 500 e 750 mg/L resultaram em menor grau de infestação (154 ± 27 e 165 ± 75) de trofontes por peixe e não diferiram entre si. Em banhos subsequentes, de 48 e 72 h, observou-se aumento significativo do grau de infestação dos peixes nas concentrações 0 mg/L (1370 ± 827 a 1579 ± 329) e 250 mg/L (489 ± 97 a 1073 ± 435) quando comparado às concentrações 500 mg/L (149 ± 56 a 136 ± 33) e 750 mg/L (91 ± 31 a 88 ± 30), respectivamente. A eficácia do toltrazuril foi observada nas concentrações 500 e 750 mg/L logo após o primeiro banho, porém ao longo das 192 h, foi verificada mortalidade dos peixes para todas concentrações: 100% para 250 e 750 mg/L, 90% para 0 mg/L e 76,6% para 500 mg/L. Durante o teste de tolerância, sem os peixes estarem infestados, observou-se mortalidade apenas nas concentrações 500 e 750 mg/L, com taxas de 6,67% e 16,67%, respectivamente. Para o segundo experimento, juvenis de *Rhamdia branneri* ($4,47 \pm 0,21$ g; $8,03 \pm 0,10$ cm) foram alimentados com ração extrusada (45% de proteína bruta) a 2% da biomassa durante 15 dias. Posteriormente, os peixes foram expostos ao *I. multifiliis* por coabitação com juvenis de carpa infestados por ictio durante 10 dias ($20,67 \pm 1,39$ °C). Foram usadas duas concentrações de toltrazuril (TT 2 e 4 mg/g), duas concentrações de BioGermex (BIO 150 e 200 mg/g), um Controle negativo (ração mais

água deionizada) e um Controle positivo (ração inalterada). O estudo revelou que o toltrazuril nas concentrações 2 e 4 mg/g e BioGermex na concentração de 200 mg/g foram eficazes na redução da infestação de *I. multifiliis*. Porém, os tratamentos TT 2 mg/g e BIO 200 mg/g apresentaram melhor desempenho de crescimento, bem como conversão e eficiência alimentar. Apesar de TT4 mg/g ter resultado em maior redução do grau de infestação dos peixes que TT2 mg/g e BIO 200 mg/g, este tratamento apresentou baixa taxa de crescimento específico, eficiência alimentar e ganho de peso diário. A sobrevivência foi semelhante entre os tratamentos e superior a 99%. Assim, verificou-se que o toltrazuril em banho de imersão não é recomendável para o tratamento de jundiá *R. quelen* contra *I. multifiliis* devido à alta mortalidade ocorrida nas concentrações 500 e 750 mg/L, apesar da redução na infestação de ictio, sugerindo-se então a busca por outros produtos alternativos na forma de banhos de imersão. Quando incorporados na dieta, recomenda-se o uso de 2 mg toltrazuril/g ou 200 mg BioGermex/g, pois estes não influenciaram o desempenho zootécnico e foram eficazes na redução da infestação por trofontes de *I. multifiliis*.

Palavras-chave: Aquicultura, imersão, ictiofitiríase, toltrazuril, biogermex, eficácia

ABSTRACT

Ichthyophthirius multifiliis is a cosmopolitan important ciliate ectoparasite, which results in significant economic losses in the aquaculture industry. The production of Silver catfish fingerlings is being compromised by frequent infection of the *I. multifiliis* parasite. In order to evaluate its efficiency in the treatment and / or prevention of Ichthyophthiriasis, two experiments were carried out: 1) immersion baths with different concentrations of toltrazuril (Baycox®); 2) different concentrations of citrus biomass (BioGermex®) or toltrazuril included in the diet. Immersion baths were performed at four different product concentrations: 0, 250, 500 and 750 mg toltrazuril / L in *Rhamdia quelen* juveniles (2.99 ± 0.62 g, 3.01 ± 0.157 cm). The concentrations used were determined through a tolerance test using the same experimental methodology, but without the individuals being infested. Three sequential baths were performed with duration of 4 h, with a 24 h interval between them. The experiment had a total duration of 192 h. For the infested fishes, in the first bath, the concentration of 0 mg / L presented a greater number of trophonts (821 ± 273) in relation to all the other concentrations tested, followed by the concentration 250 mg / L (702 ± 161). Concentrations of 500 and 750 mg / L showed a lower number of trophonts (154 ± 27 and 165 ± 75) and did not differ from each other. In subsequent baths of 48 and 72 h, a significant increase in trophonts was observed in concentrations 0 mg / L (1370 ± 827 to 1579 ± 329) and 250 mg / L (489 ± 97 to 1073 ± 435) when compared to concentrations 500 mg / L (149 ± 56 to 136 ± 33) and 750 mg / L (91 ± 31 to 88 ± 30), respectively. The efficacy of toltrazuril was observed at 500 and 750 mg / L right after the first bath, however throughout the 192 h, fish mortality was observed for all concentrations: 100% for 250 and 750 mg / L, 90% for 0 mg / L and 76.6% to 500 mg / L. During the tolerance test, without the fish being infested, mortality was observed only at concentrations of 500 and 750 mg / L, with rates of 6.67% and 16.67%, respectively. For the second experiment, juveniles of *Rhamdia branneri* (4.47 ± 0.21 g, 8.03 ± 0.10 cm) were fed extruded ration (45% crude protein) at 2% of the biomass for 15 days. Subsequently, the fish were exposed to *I. multifiliis* by cohabitation with juvenile infested carp for 10 days (20.67 ± 1.39 ° C). Two concentrations of toltrazuril (TT 2 and 4 mg / g), two concentrations of BioGermex (BIO 150 and 200 mg / g), a Negative Control (ration plus deionized water) and a Positive Control (unchanged ration) were used. The study revealed that toltrazuril at concentrations 2 and 4 mg / g and BioGermex at the

concentration of 200 mg / g were effective in reducing infestation trophonts of *I. multifiliis*. However, the treatments TT 2 mg / g and BIO 200 mg / g had better specific growth rate, good conversion, feed efficiency and daily weight gain. Although TT 4 mg / g showed a greater reduction in the number of trophonts than TT 2 mg / g and BIO 200 mg / g, this treatment presented low performance in the specific growth rate, feed efficiency and daily weight gain. Survival was similar between treatments and greater than 99%. Thus, according to the results of the two experiments, toltrazuril in an immersion bath cannot be recommended for the treatment of Silver catfish (*R. quelen*) against *I. multifiliis* due to the high mortality found for the 500 and 750 mg / L concentrations, despite of the reduction in the number of trophonts, suggesting the search for alternative products in the form of immersion baths. When applied as a diet, it is recommended to use 2 mg toltrazuril / g or 200 mg BioGermex / g, as these did not influence the performance of the animals and were effective in reducing infection trophont of *I. multifiliis*.

Keywords: Aquaculture, immersion, ichthyophytariasis, toltrazuril, biogermex, efficacy

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1: Espécime <i>Rhamdia quelen</i> (Quoy & Gaimard, 1824)	23
Figura 2: Espécime <i>Rhamdia branneri</i> (Haseman, 1911)	23
Figura 3: Espécime de linhagem <i>Rhamdia branneri</i>	25
Figura 4: Juvenil de <i>Rhamdia quelen</i> experimental infestado pelo <i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	26
Figura 5: Ciclo de vida de <i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	27

CAPITULO I

Figura 1. Relação concentração na redução de número de trofontes de <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> durante banhos terapêuticos em diferentes concentrações de toltrazuril (0, 250, 500 e 750 mg/L) em juvenis de jundiá <i>Rhamdia quelen</i> (n=22).....	45
Figura 2. Mortalidade acumulada (%) de juvenis de jundiá <i>Rhamdia quelen</i> (n = 22) infestados por <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> submetidos a diferentes concentrações de toltrazuril (0, 250, 500 e 750 mg/L)	46

CAPITULO II

Figura 1. Número (média ± DP) de trofontes de <i>I. multifiliis</i> em juvenis de <i>Rhamdia branneri</i> (n=10) alimentados previamente com dieta contendo substâncias profiláticas após 10 dias de coabitação com peixes infestados com ictio. Diferentes letras indicam diferenças significativas (p < 0,05).....	65
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Número de trofontes (média \pm DP) de *Ichthyophthirius multifiliis* em alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* (n=22) submetidos a banho por imersão com toltrazuril em diferentes concentrações (0, 250, 500 e 750 mg/L). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos a cada intervalo de tempo (colunas), e letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) ao longo do tempo no mesmo tratamento (linhas): mortalidade de 100% nos tratamentos 44

Tabela 2. Taxa de prevalência (T.Pv%) e intensidade média (I.Med) (média \pm desvio padrão) de trofontes de *Ichthyophthirius multifiliis* em jundiá *Rhamdia quelen* (n=3). Taxa de prevalência = (número de peixes infectados/número de peixes analisados) x 100; e intensidade média = número total de uma espécie de parasito na amostra / número de peixes infectados por aquele parasito. (---) não foi calculado devido à mortalidade de 100% 47

Tabela 3. Mortalidade (média \pm desvio padrão) de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* expostos às concentrações 0, 250, 500 e 750 mg toltrazuril/L durante teste de toxicidade 47

CAPÍTULO II

Tabela 1. Valores médios (\pm DP) do peso (g) e comprimento (cm) de juvenis de *Rhamdia branneri* alimentados com ração comercial contendo diferentes concentração de toltrazuril ou biomassa cítrica. Diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) 66

Tabela 2. Efeito do desempenho de juvenis de *Rhamdia branneri* alimentados por 15 dias com dieta contendo diferentes concentrações de toltrazuril e biomassa cítrica (n =10). Diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) 66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

UE - União Europeia

Min- minuto

TT- tratamento com toltrazuril

Bio- tratamento com biogermex

g-grama

mg/L - miligrama por litro

mg/g - miligrama por grama

h - horas

US\$ - valor em dolar

% - porcentagem

°C - temperatura em graus centrígrado

cm – centímetros

vss - volume da solução de estoque

vt- volume da solução total

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO GERAL	21
1.1.Visão geral da aquicultura e pesca no mundo	21
1.1.2.Maiores produtores, exportadores e importadores	21
1.2.Aquicultura no Brasil	22
1.2.1.Espécies produzidas pela piscicultura em Santa Catarina	22
1.3. <i>Rhamdia quelen</i> e <i>R. branneri</i>	22
1.3.1. <i>Rhamdia quelen</i> (Quoy & Gaimard, 1824)	22
1.3.2. <i>Rhamdia branneri</i> (Haseman, 1911)	23
1.3.3.Características gerais	24
1.3.4.Características biológicas	24
1.3.5.Linhagem de <i>R.branneri</i>	25
1.4. <i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	25
1.4.1. Ciclo de vida do <i>I. multifiliis</i>	26
1.4.2. Mecanismo de contato do parasita ao hospedeiro	27
1.4.3.Imunidade do hospedeiro e sinais clínicos	28
1.5.Tratamento contra <i>I. multifiliis</i>	28
1.5.1.Uso de produtos químicos em piscicultura.....	29
1.5.2.Uso de fitoterápicos e fatores nutricionais	30
1.5.3.Biomassa cítrica (BioGermex®)	30
1.5.4.Toltrazuril (Baycox®).....	31
1.6.Manejo de qualidade de água e efeito do estresse	31
2.JUSTIFICATIVA.....	32
3.OBJETIVOS	32
3.1.Objetivo Geral	32
3.2.Objetivos Específicos.....	32
FORMATAÇÃO DOS ARTIGOS.....	33
CAPÍTULO I.....	35
Highlights	36
Resumo.....	37
Abstract	38
1.Introdução	39
2.Material e Métodos.....	40
2.1. Animais experimentais	40
2.2. Teste de toxicidade de toltrazuril em juvenis de jundiá	40
2.3. Infestação dos juvenis	41
1.4.Efeito do toltrazuril contra a infestação por <i>I. multifiliis</i>	42
2.5. Contagem dos trofontes.....	42
2.6. Qualidade da água	43
2.7. Análise estatística.....	43

3. Resultados.....	44
3.1. Infestação dos juvenis de jundiá e eficiência do toltrazuril contra o <i>I. multifiliis</i>	44
3.2. Mortalidade acumulada.....	45
3.3. Taxa de prevalência e intensidade média de infestação por <i>I. multifiliis</i>	46
3.4. Tolerância do jundiá ao toltrazuril.....	46
4. Discussão.....	48
Agradecimentos.....	49
Referências.....	49
CAPÍTULO II.....	55
Highlights.....	56
Resumo.....	57
Abstract.....	58
1. Introdução.....	59
2. Material e Métodos.....	60
2.1. Peixes e condições experimentais.....	60
2.2. Alimentação profilática com toltrazuril e fitoterápico cítrico.....	61
2.3. Avaliação do desempenho zootécnico.....	61
2.4. Infestação experimental e avaliação da eficiência do químico e do fitoterápico contra o <i>I. multifiliis</i>	62
2.5. Contagem dos trofontes.....	62
2.6. Qualidade da água.....	63
2.7. Análise estatística.....	63
3. Resultados.....	63
3.1. Efeito do químico e do fitoterápico no número de trofontes de <i>I. multifiliis</i>	64
3.2. Efeito do químico e do fitoterápico no desempenho de juvenis de jundiá <i>R. branneri</i>	65
4. Discussão.....	67
5. Conclusão.....	69
Agradecimentos:.....	69
Referências.....	69
CONCLUSÃO GERAL.....	77
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL.....	79

1.INTRODUÇÃO GERAL

1.1.Visão geral da aquicultura e pesca no mundo

A produção mundial de peixe cresceu de forma constante nas últimas cinco décadas, com o aumento da oferta de peixes a uma taxa anual média de 3,2% (FAO, 2014). A média do consumo mundial per capita de peixe aumentou de 14,4 kg na década de 1990, para 20 kg em 2014 e 2015 (FAO, 2016). De acordo com FAO (2016), a aquicultura continental em 2014 manteve essa tendência positiva que resultou em um aumento de 37% na última década. A produção de animais aquáticos pela aquicultura em 2014 ascendeu a 73,8 milhões de toneladas, com um valor estimado de primeira venda de U\$ 160,2 bilhões. Esse total compreende 49,8 milhões de toneladas de peixe (U\$ 99,2 bilhões), 16,1 milhões de toneladas de moluscos (U\$ 19 bilhões), 6,9 milhões de toneladas de crustáceos (U\$ 36,2 bilhões) e 7,3 milhões de toneladas de outros animais aquáticos, incluindo anfíbios (U\$ 3,7 bilhões) e foram cultivadas 27,3 milhões de toneladas de plantas aquáticas (U\$ 5,6 bilhões) (FAO, 2016).

1.1.1.Crescimento mundial da produção de proteína animal por setor

A produção da pesca extrativa apresenta-se estável com tendência de decréscimo. A aquicultura mostra índices de crescimento importantes para a produção de proteína animal, liderando com 43% desse total, contra 15,7% da pesca, 12,9% da avicultura, 9,2% da suinocultura e 8,4% proveniente da bovinocultura de corte (FAO, 2012).

1.1.2.Maiores produtores, exportadores e importadores

A China é o principal produtor e maior exportador de peixe e de produtos da pesca, seguido da Noruega, que registrou valores recordes de exportação em 2015. Em 2014, o Vietnã tornou-se o terceiro maior exportador, ultrapassando a Tailândia, que sofreu um declínio substancial nas exportações desde 2013, principalmente relacionado à redução da produção de camarão devido a problemas de doenças. Em 2014 e 2015, a União Europeia (UE) foi o maior mercado importador de peixe, seguido pelos Estados Unidos e Japão (FAO, 2016).

Segundo a FAO (2016), em 2014, 84% da população mundial envolvida no setor de pesca e aquicultura estava situada na Ásia, seguida pela África (quase 10%) e pela América Latina e Caribe (4%). Mais de 18 milhões (33% de todas as pessoas empregadas no setor) estavam envolvidos na atividade de piscicultura, concentrados principalmente na

Ásia (94%), seguido pela América Latina e Caribe (1,9% do total e equivalente a 3,5 milhões de pessoas) e África (1,4% do total e relativo a 2,6 milhões de pessoas).

1.2. Aquicultura no Brasil

O Brasil é o maior mercado da América Latina e um dos maiores do mundo com potencial agropecuário. Apesar de ser grande produtor de frango, bovinos e suínos, a piscicultura foi o setor de carnes que apresentou o maior incremento percentual de produção em 2016, com crescimento anual de 4,4%, contra 1,4% para bovinos, 1,9% para a avicultura, suínos com 0,4% e uma redução de 26,1% no setore de carcinicultura (IBGE, 2017). A produção total da piscicultura brasileira em 2016 foi de 507,12 mil toneladas em relação ao ano anterior. A tilápia, principal espécie aquícola cultivada no país, apresentou incremento médio de produção de 9,3% (IBGE, 2017).

1.2.1. Espécies produzidas pela piscicultura em Santa Catarina

O principal produto da aquicultura em Santa Catarina é o peixe de água doce. Dentre as vinte espécies cultivadas, as principais por ordem de produção são a tilápia nilótica (64,1%), seguida pelas quatro espécies de carpas (29,3%), trutas (1,9%) e jundiás (1,9%) (EPAGRI/CEDAP, 2013).

1.3. *Rhamdia quelen* e *R. branneri*

Os jundiás *Rhamdia quelen* e *Rhamdia branneri* pertencem à mesma família Heptapteridae, sendo que por meio de estudos da morfologia e citogenética foi comprovado que são espécies distintas (GARAVELLO e SHIBATTA, 2016), apesar de anteriormente serem consideradas sinonímias (SILFVERGRIP, 1996).

1.3.1. *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824)

O jundiá *R. quelen* é um siluriforme encontrado nas Américas Central e do Sul (PERDICES et al., 2002), tolera baixas temperaturas, apresentando bom crescimento no inverno e verão, principalmente, no Sul do Brasil (PIAIA e BALDISSEROTTO, 2000), sendo a temperatura ótima de criação situada entre 22 e 28 °C para os adultos e entre 15 e 34 °C para os juvenis (GOMES et al., 2000). *R. quelen*, difere-se de *R. branneri* por combinar o perfil dorsal em suave curva regular, levemente convexo entre o supraoccipital e a nadadeira dorsal, com delicada serra do espinho peitoral e o padrão de coloração marrom escuro ou cinza claro na região dorsal com abdome pálido, sem qualquer vestígio de

coloração densamente pintalgado de negro (GARAVELLO e SHIBATTA, 2016) (Figura 1).



Figura 1: Espécime *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). Reprodutor coletado no Alto Rio Uruguai (LAPAD).

1.3.2. *Rhamdia branneri* (Haseman, 1911)

R. branneri é uma espécie endêmica da bacia do rio Iguaçu, situada predominantemente no estado do Paraná e parte em Santa Catarina. Quando comparada com *R. quelen*, possui maior distância entre a nadadeira dorsal e a adiposa, maior altura do pedúnculo caudal, a maior altura do tronco na vertical é observada entre a nadadeira adiposa e porção situada entre as nadadeiras ventral e anal, além de apresentar maior largura da cintura escapular (GARAVELLO e SHIBATTA, 2016) (Figura 2). Adicionalmente, demonstra menor comprimento dos barbilhões maxilar e mentoniano externo, além de menor distância interorbital e menor comprimento da base da adiposa. Possui coloração marrom escuro ou cinza claro na região dorsal com abdome pálido (GARAVELLO e SHIBATTA, 2016).



Figura 2: Espécime *Rhamdia branneri* (Haseman, 1911). Figura extraída de Ribolli et al. 2017.

1.3.3. Características gerais

O jundiá apresenta rápido crescimento, boa conversão alimentar, rusticidade, carne de boa qualidade e palatabilidade, com potencial para produção massiva (BARCELLOS et al., 2003; SANTOS, 1981; GOMES et al., 2000; FRACALOSSO et al., 2008; MEYER e FRACALOSSO, 2004; ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2012). Sobre ele já são dominados os aspectos referentes a reprodução induzida, larvicultura, alevinagem e engorda (BOMBARDELLI et al., 2006; GIL et al., 2004; PIAIA e BALDISSEROTTO, 2000; HUERGO e ZANIBONI-FILHO, 2006; WEISS e ZANIBONI-FILHO, 2009; FUKUSHIMA et al., 2012). Adultos de *R. quelen* são onívoros, com uma clara preferência por peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais, e detritos orgânicos, (GOMES et al., 2000; MEURER e ZANIBONI-FILHO, 1997). Essa espécie movimenta-se à noite e sai de seus esconderijos depois das chuvas para se nutrir dos escombros deixados ao longo dos rios. De acordo com GOMES et al. (2000), os organismos encontrados no conteúdo gastrintestinal de *R. quelen* não são restritos ao habitat bentônico, indicando que essa espécie é generalista com relação à escolha de alimento.

1.3.4. Características biológicas

A maturidade sexual do *R. quelen* é atingida por volta de um ano de idade em ambos sexos, podendo se verificar a maturação gonadal nos machos com 13,4 cm e nas fêmeas com 16,5 cm (GOMES et al., 2000; BALDISSEROTTO, 2004). Apresenta fecundação externa, desova parcelada e realiza curtas migrações laterais (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2008). Apresenta ovos amarelados com dupla membrana e com espaço perivitelínico moderado, e as larvas recém-eclodidas são pequenas, com pigmentação restrita à região da cabeça e do saco vitelínico (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2008). De acordo com TATAJE e ZANIBONI-FILHO (2008), a larva de jundiá inicia a alimentação entre o segundo e o terceiro dia após a eclosão, começando principalmente com a ingestão de microcrustáceos e seguindo com as larvas de insetos presentes nos bentos na fase posterior ao estágio de flexão.

A coloração do jundiá varia de marrom avermelhado claro a cinza, enquanto que a pigmentação da parte inferior da cabeça é variável. É um peixe de couro, com barbilhões de crescimento alométrico negativo, e esta relação é provavelmente aumentada devido à grande possibilidade de dano dos barbilhões em exemplares de grande porte (GOMES et al., 2000).

1.3.5. Linhagem de *R. branneri*

A espécie *R. quelen*, desde a revisão feita por Silfvergrip (1996), congregava 49 espécies que eram consideradas sinônimas. *R. branneri*, que estava entre elas e era considerada sinônima de *R. quelen*, passou a ser considerada espécie válida com base em estudos morfológicos (GARAVELLO e SHIBATTA, 2016) e citogenéticos (RIBOLLI et al., 2017). Através do teste de DNA barcoding, ferramenta molecular bastante precisa para a identificação de espécies e utilizada para resoluções taxonômicas (HEBERT et al., 2003), foi possível confirmar que os peixes utilizados no segundo capítulo desta dissertação é uma linhagem comercial de *R. branneri* (RIBOLLI et al., 2017), com voucher (número 18115) já depositado no Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (Figura 3).



Figura 3: Espécime de linhagem comercial *Rhamdia branneri* (Foto: Josiane Ribolli).

1.4. *Ichthyophthirius multifiliis*

A piscicultura tem se desenvolvido intensamente no Brasil, principalmente nos últimos anos, sendo hoje cultivadas várias espécies, sejam nativas ou introduzidas (PAVANELLI, 2008). Mas o sucesso desta atividade depende de vários fatores, como por exemplo o fator sanitário, pois a produção só pode ter sucesso desde que a sua gestão leve em consideração esse aspecto, nas várias vertentes da profilaxia e tratamento das doenças (PAVANELLI, 2008). A produção de juvenis de jundiá está sendo comprometida principalmente pela infestação frequente do parasito *I. multifiliis* (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2012; GARCIA et al., 2007), além de epistylídeos e tricodinídeos (TANCREDO et al., 2015) (Figura 4).

O *I. multifiliis* é um protozoário ectoparasita unicelular ciliado de distribuição cosmopolita, causador da ictiofitiríase, conhecida usualmente por “doença dos pontos brancos” (PAVANELLI, 2008). O *I. multifiliis* invade o epitélio da pele e da brânquia dos peixes, causando danos e úlcera nos locais parasitados (MATTHEWS, 2005; WEI et al.,

2013). As lesões causadas pelo mesmo servem de porta de entrada para as infecções bacterianas, levando à mortalidade dos peixes (XU et al., 2012).



Figura 4: Juvenil de *Rhamdia quelen* experimental infestado pelo *Ichthyophthirius multifiliis* (Foto: Orbino).

1.4.1. Ciclo de vida do *I. multifiliis*

O *I. multifiliis* possui um ciclo de vida polimórfico (WEI et al., 2013), sendo que a estrutura morfológica de cada indivíduo em diferentes estágios foi revista em detalhes por MATTHEWS (2005). O ciclo de vida do protozoário é dividido em quatro fases distintas (Figura 4) (PICÓN-CAMACHO et al., 2012). O trofante reside e alimenta-se na epiderme do hospedeiro, onde pode obter um diâmetro de até aproximadamente 1 mm. O trofante apresenta evidente crescimento corporal a partir do aumento do macronúcleo, produção de vacúolos alimentares e lipossomas, além da formação de novos mucocistos na célula. Outras organelas também aumentam em número nessa fase de vida, até que o trofante alcance a maturidade e se transforme em tomonte capaz de sofrer divisão celular (EWING e KOCAN, 1992; AIHUA e BUCHMANN, 2001). A sua reprodução ocorre através de fissão binária.

Neste estágio de tomonte, numerosas células filhas (tomitos) são produzidas. O número de tomitos resultantes de um tomonte varia de 50 até alguns milhares (BUCHMANN et al., 2001). Os tomitos diferenciam-se em terontes de natação livre, que são os indivíduos infectantes.

O tomito encistado passa para a fase de teronte com comprimento corporal que varia de 20 a 60µm, quando estão prontos para infectar o epitélio dos peixes. Vários estudos têm demonstrado que todos estes estágios do ciclo de vida são extremamente dependentes da temperatura (PICÓN-CAMACHO et al., 2012). Mas de acordo com BUCHMANN et al. (2001), o tempo necessário para o desenvolvimento e liberação de tomontes a partir de um trofante é de 9 dias a 5 °C, mas é reduzido drasticamente para 18 h quando a temperatura é de 25 °C.

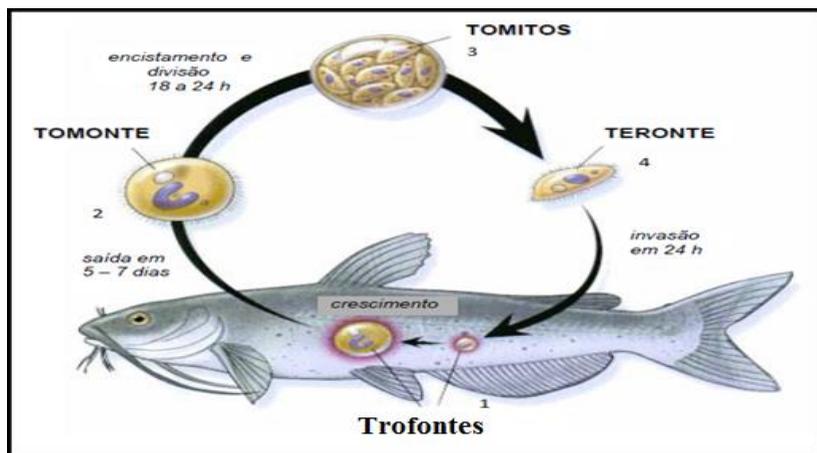


Figura 5: Ciclo de vida de *Ichthyophthirius multifiliis* (20 °C). Adaptado de (CASSIDY-HANLEY et al., 2011; DICKERSON e CLARK, 1998; NÉMETH et al., 2013; PICON-CAMACHO, 2010; WEI et al., 2013; MATTHEWS, 2005).

1.4.2. Mecanismo de contato do parasita ao hospedeiro

A entrada do parasita no hospedeiro é, inicialmente, decorrente de resposta a fatores ambientais, em particular ao fototaxismo positivo, o qual demonstra que a atração dos terontes não é inicialmente para o hospedeiro (MATTHEWS, 2005). Uma resposta tão positiva à luz, no entanto, asseguraria o movimento ascendente do parasita para a superfície, aumentando assim as oportunidades de contato do hospedeiro. Segundo BUCHMANN et al. (2001) o teronte penetra na epiderme, epitélio e brânquias, movendo-se entre duas células epiteliais para as camadas epidérmicas subjacentes. Como é exatamente onde as células mucosas se abrem para a superfície do peixe, os estágios invasivos têm acesso à epiderme invadindo as células mucosas

(BUCHMANN et al., 2001). A penetração da pele geralmente é precedida por uma atividade de natação rápida nas imediações da superfície do hospedeiro (BUCHMANN et al., 2001; MATTHEWS, 2005). Trofontes ocorrem dentro da epiderme adjacente à lâmina basal, em todo o corpo do hospedeiro, e também no epitélio de brânquias e nas cavidades bucal e faríngea, porém, raramente nas fossas nasais e nas fissuras circumorbitais (MATTHEWS, 2005).

1.4.3. Imunidade do hospedeiro e sinais clínicos

Após a infestação por terontes, os trofontes móveis causam danos nos tecidos, que levam a respostas inflamatórias locais provocando mudanças nos tecidos e células (MATTHEWS, 2005; DICKERSON, 2015). A resposta imune adaptativa começa quando as células fagocíticas que residem na pele e brânquias são recrutadas para esses locais e absorvem os antígenos liberados pelo parasita (MATTHEWS, 2005; DICKERSON, 2015).

As invasões de tecidos subepidérmicos são previamente atribuídas a estágios avançados da doença, quando os tecidos subjacentes são expostos pela lesão e descamação do epitélio (MATTHEWS, 2005).

A resposta à infecção se dá pelo aumento da produção de muco superficial. Antes do aparecimento dos pontos brancos típicos na pele, os peixes infectados mostram sinais não específicos de irritação suave da pele, além de mudanças notáveis no comportamento da natação. Segundo PICÓN-CAMACHO et al., (2012), os peixes infectados geralmente demonstram pontos vermelhos hemorrágicos na base de suas nadadeiras. Depois de alguns dias, os peixes perdem apetite, se tornam letárgicos, diminuem sua atividade e as brânquias passam a mostrar uma aparência pálida e inchada (FRANCIS-FLOYD e REED, 2009; PICÓN-CAMACHO et al., 2012). A invasão mecânica do parasita causa lesões que se desenvolvem facilmente em úlceras, expondo os tecidos mais profundos a infecções fúngicas ou bacterianas secundárias (PICÓN-CAMACHO et al., 2012).

1.5. Tratamento contra *I. multifiliis*

O tratamento de infecções utilizando antiparasitários está ganhando importância na aquicultura. No entanto, vários produtos como o verde de malaquita e os nitroimidazoles foram banidos no tratamento dos animais aquáticos devido ao seu efeito residual cancerígeno (PICÓN-CAMACHO et al., 2012; WEI et al., 2013). Dessa forma, uma série de outras substâncias como formaldeído, sulfato de cobre, ácido

peracético ou percarbonato de sódio, cloreto de sódio, estão sendo usados para o controle da ictiofitiríase (JAAFAR e BUCHMANN, 2011; WEI et al., 2013; GARCIA et al., 2007), assim como os extratos vegetais *Galla chinensis* (ZHANG et al., 2013), Alho (*Allium sativum*), *Mucuna pruriens*, *Carica papaya*, *Capsicum frutescens* e *Psoralea corylifolia* (LING et al., 2013).

O tratamento às infestações de *I. multifiliis* em aquicultura podem ser feitos de forma eficaz por meio de banhos de imersão, incorporação de antiparasitários na dieta (JAAFAR e BUCHMANN, 2011; PICÓN-CAMACHO et al., 2012), pela imunização usando vacinas (DICKERSON, 2015), pelo controle biológico (PICÓN-CAMACHO et al., 2012b) e até mesmo pelo controle mecânico (SHINN et al., 2009).

1.5.1. Uso de produtos químicos em piscicultura

O uso de produtos antiparasitários nos sistemas de produção aquícola, constitui uma ameaça aos organismos aquáticos, à saúde do homem e ao meio ambiente (XU et al., 2008). Assim, o uso de produtos de menores riscos à base de agentes biológicos, tais como biopesticidas, tem sido incentivado. Apesar da conhecida inocuidade dos biopesticidas usados no combate a parasitas, alguns relatos têm mostrado infecções e efeitos adversos em organismos não-alvo, entre eles espécies aquáticas (JONSSON, et al., 2014; NEPEAQUI, 2015).

Muitas das doenças que causam prejuízos na criação de peixes são provocadas por agentes infecciosos, que podem tornar a atividade onerosa e pouco lucrativa para os piscicultores devido à mortalidade excessiva durante surtos de infecção ou infestação (BUCHMANN, 2015). Entre os principais grupos de parasitas que causam doenças na aquicultura estão os dinoflagelados, os protozoários, os mixosporídeos, os monogenéticos e os crustáceos, além de fungos, bactérias e vírus que, ao encontrarem condições adequadas, proliferam causando as doenças (BUCHMANN, 2015; TAVECHIO et al., 2009).

Além de vários produtos químicos aplicados no tratamento de parasitoses em peixes (PICÓN-CAMACHO et al., 2012), a oxitetraciclina é muito usada no tratamento de infecções bacterianas, atuando tanto sobre bactérias Gram positivas quanto Gram negativas (FUJIMOTO et al., 2012). Esses produtos, além do efeito tóxico aos tecidos dos peixes, principalmente nas brânquias, no tegumento e no fígado, podem acumular resíduos na musculatura, oferecendo assim um risco potencial ao consumidor caso não sejam respeitados os tempos de carência pós-tratamento (TAVECHIO et al., 2009). Além disso, aumentam significativamente o impacto ambiental na área do entorno da

piscicultura onde os resíduos tendem a ser descartados, devendo o uso de produtos químicos ser regido por legislação específica (TAVECHIO et al., 2009).

1.5.2. Uso de fitoterápicos e fatores nutricionais

A prática da fitoterapia é uma alternativa com potencial para prevenção ou controle de patógenos na aquicultura. Consiste no uso de diferentes partes de plantas na prevenção e controle de doenças (HU et al., 2014), sendo que algumas tiveram uma eficácia significativa no tratamento de *I. multifiliis* (LIU et al., 2017). Atualmente, é crescente o interesse sobre as substâncias oriundas de plantas como alternativas ao uso de antibióticos e produtos químicos no combate a patógenos na piscicultura (LING et al., 2013). A imunonutrição é uma das técnicas que visa aumentar a resistência imunológica de animais cultivados através da alimentação (TAVECHIO et al., 2009), pois fornece nutrientes essenciais que atuam diretamente no sistema imunológico, conferindo resistência ao estresse do confinamento, às mudanças na qualidade da água e a infecções ou infestações parasitárias (TAVECHIO et al., 2009).

1.5.3. Biomassa cítrica (BioGermex®)

Para a prevenção de ictio já foram testadas mais de uma centena de substâncias, mesmo assim, o setor aquícola ainda está à procura de um produto comercialmente viável, natural, e que cause o menor dano possível ao meio ambiente (PICÓN- CAMACHO et al., 2012). Nesse sentido, o fitoterápico a base de biomassa cítrica BioGermex®, que é produzido pela empresa Biogermex, é um produto orgânico que atua como bactericida e fungicida natural. Apresenta potencial de uso na área agrícola como tratamento profilático de fungos, bactérias e contra o ataque de insetos, incluindo a piscicultura. Os estudos prévios realizados com truta (*Oncorhynchus mykiss*), tilápia (*Oreochromis niloticus*) e carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*), onde testaram a dose recomendada pelo fabricante para banhos de imersão (0,0015 a 0,0020 mL de Biogermex®/L de água), revelam que a dose é segura para o tratamento profilático dessas espécies (GARCIA, et al., 2011). A composição dessa biomassa cítrica é complexa, contendo bioflavonóides cítricos (vitamina P), fitoalexinas cítricas, ácido ascórbico (vitamina C), ácido cítrico, polipeptídeos cítricos, ácido palmítico, ácidos graxos diversos, açúcares, glicerídeos e tocoferóis de acordo com a informação do fabricante (BioGermex®).

1.5.4. Toltrazuril (Baycox®)

O produto comercial Baycox®, cujo princípio ativo é o toltrazuril (1-metil-3-{3-metil-4-(4-(trifluorometiltio) phenoxy) phenyl}-1,3,5-triazine-2,4,6(1h,3h,5h)-trione) (KIM et al., 2010), é um composto químico orgânico sintético que atua na redução das enzimas succinato-citocromo C redutase, NADH oxidase e fumarato oxidase. Esse produto é amplamente utilizado na avicultura, bovinocultura, suinocultura, contra todos os estádios de desenvolvimento intracelular, incluindo os de esquizogonia e gamotogonia entre outros, sendo usado para o combate ao parasito ciliado *Eimeria* sp. (Coccídio) (KIM et al., 2010; PICÓN-CAMACHO, et al., 2012). Na piscicultura foi incluído na ração para o tratamento de *I. multifiliis* em truta (JAAFAR e BUCHMANN, 2011) e para o tratamento de *Goussia carpelli* em carpa-comum (MOLNÁR e OSTOROS, 2007), além de ter sido utilizado em banhos de imersão com *Anguilla anguilla* para o tratamento de *I. multifiliis*, *Apiosoma amoeba* e *Trichodina* sp. (SCHMAHL et al., 1989).

1.6. Manejo de qualidade de água e efeito do estresse

A manipulação da qualidade da água, incluindo mudanças na temperatura, salinidade e pH, provou ser uma estratégia que pode ser efetiva para a eliminação de *I. multifiliis* de sistemas fechados, onde as condições de sobrevivência possam favorecer mais o hospedeiro do que o parasita (DICKERSON, 2015). É notório que água de má qualidade leva os peixes a ficarem estressados, tornando-os mais suscetíveis a enfermidades (PAVANELLI, 2008). O estresse afeta o equilíbrio fisiológico dos peixes e conseqüentemente, a alteração do seu sistema imunológico que pode diminuir a capacidade de reação aos patógenos. Os fatores de estresse que afetam a suscetibilidade dos peixes a uma infecção por patógenos incluem a presença de pesticidas, moléculas tóxicas xenobióticas, além da densidade de criação, flutuação de temperatura e o próprio manejo. A inadequação dos fatores físico-químicos da água induz ao estresse caracterizado por alterações hormonais, distúrbios metabólicos e osmóticos, além da variação na concentração de íons (WEI et al., 2013).

2.JUSTIFICATIVA

Um dos entraves para a produção comercial de juvenis de jundiá é a presença do parasito ciliado *I. multifiliis*, que geralmente se manifesta pela primeira vez durante a segunda quinzena da larvicultura. A mortalidade em grande massa nessa fase é um fator importante e que tem influenciado na decisão do piscicultor comercial em continuar ou abandonar a produção de juvenis dessa espécie. Para o combate ao ictio, alguns produtores utilizam técnicas já ultrapassadas, de eficiência duvidosa, e até mesmo não recomendadas e/ou legalmente proibidas, tais como a utilização da solução de formalina e de verde de malaquita aplicadas diretamente nos viveiros de produção. Por ser uma substância já utilizada em animais de abate (suínos, bovinos e aves), e de eficiência comprovada no combate aos parasitos ciliados, o uso do coccida Baycox® (cujo princípio ativo é o toltrazuril) na forma de banhos e incorporado na dieta, pode vir a ser uma alternativa para o tratamento do ictio em jundiá. Por outro lado, os promissores testes do uso da biomassa cítrica (BioGermex®) na piscicultura como bactericida, estimulam a realização de estudos para testar a eficiência dessa substância fitoterápica no tratamento profilático das infestações causadas pelo ictio em jundiá.

3.OBJETIVOS

3.1.Objetivo Geral

Avaliar o efeito de diferentes concentrações do toltrazuril (Baycox®) na profilaxia e no tratamento, além do fitoterápico a base de biomassa cítrica (BioGermex®) na prevenção do parasito *Ichthyophthirius multifiliis* em juvenis de jundiá (*Rhamdia* sp.).

3.2.Objetivos Específicos

- Testar banhos de imersão com diferentes concentrações de toltrazuril (Baycox®) para o tratamento de *I. multifiliis* em juvenis de jundiá (*R. quelen*);
- Testar a incorporação na dieta de diferentes concentrações de toltrazuril (Baycox®) e do fitoterápico a base de biomassa cítrica (BioGermex®) no tratamento profilático contra a infestação por *I. multifiliis* em juvenis de jundiá (*R. branneri*).

FORMATAÇÃO DOS ARTIGOS

A dissertação é dividida em dois capítulos, os quais são artigos originais. O primeiro capítulo foi formatado segundo normas da revista *Veterinary Parasitology* (ISSN: 0304-4017) com fator de impacto 2.356 e qualis A2. O segundo capítulo foi formatado segundo normas da revista *Aquaculture* (ISSN: 0044-8486) com fator de impacto 2,009 e qualis A2.

Observação: os gráficos e as figuras foram incluídas ao longo do texto para facilitar a leitura.

CAPÍTULO I

Veterinary Parasitology
Fator de impacto 2.356, qualis A2

Banhos de imersão com toltrazuril na infestação de *Ichthyophthirius multifiliis* em juvenis de jundiá *Rhamdia quelen*

Highlights

- O uso de toltrazuril em banho de imersão é eficaz no controle de *Ichthyophthirius multifiliis*.
- As concentrações de 500 e 750 mg toltrazuril/L utilizadas em banhos de imersão reduziram o número de trofontes de *I. multifiliis* em 91 e 94%, respectivamente.
- O toltrazuril utilizado para combater a infestação *I. multifiliis* causou elevadas taxas de mortalidade em *R. quelen*.

Resumo

A produção de juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* está sendo comprometida pela infestação frequente do parasito *Ichthyophthirius multifiliis* (ictio). Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do toltrazuril (Baycox®) no tratamento contra o ictio por banho de imersão em juvenis de *R. quelen*. Foram realizados banhos de imersão nos juvenis ($2,99 \pm 0,62$ g; $3,01 \pm 0,157$ cm) em quatro diferentes concentrações do produto: 0, 250, 500 e 750 mg toltrazuril/L. As concentrações usadas foram determinadas por meio de teste de tolerância usando a mesma metodologia experimental, porém sem os indivíduos estarem infestados. Foram três banhos com duração de 4 h e intervalo de 24 h entre eles. O experimento teve duração total de 192 h. No primeiro banho, os indivíduos infestados submetidos ao tratamento controle (0 mg/L) apresentaram maior número de trofontes (821 ± 273) em relação a todas concentrações testadas, seguido da concentração 250 mg/L (702 ± 161). As concentrações de 500 e 750 mg/L resultaram em menor número de trofontes (154 ± 27 e 165 ± 75) e não diferiram entre si. Em banhos subsequentes, de 48 e 72 h, observou-se aumento significativo de trofontes nas concentrações 0 mg/L (1370 ± 827 a 1579 ± 329) e 250 mg/L (489 ± 97 a 1073 ± 435) quando comparado as concentrações 500 mg/L (149 ± 56 a 136 ± 33) e 750 mg/L (91 ± 31 a 88 ± 30), respectivamente. A eficácia do toltrazuril foi observada em banhos nas concentrações de 500 e 750 mg/L com redução da infestação de 91 e 94%. Porém, ao longo das 192 h, foi verificada mortalidade dos peixes em todas as concentrações testadas: 100% para 250 e 750 mg/L, 90% para 0 mg/L e 76,6% para 500 mg/L. Para o teste de tolerância, sem os peixes estarem infestados, foi observada mortalidade apenas para as concentrações 500 e 750 mg/L, com taxas de 6,67% e 16,67%, respectivamente. Apesar da redução no número de trofontes nas concentrações 500 e 750 mg/L, o toltrazuril não pode ser recomendado para o tratamento de jundiá *R. quelen* contra *I. multifiliis* devido à alta mortalidade observada no tratamento, sendo recomendada a busca por produtos alternativos a serem utilizados na forma de banhos de imersão.

Palavras-chave: parasito, ictiofitiríase, eficácia, Baycox®, banho por imersão, doença dos pontos brancos.

Abstract

The production of fingerlings of silver catfish (*Rhamdia quelen*) is being compromised by the frequent infestation by the parasite *Ichthyophthirius multifiliis* (ich). Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of toltrazuril (Baycox®) in the treatment of the ich parasite by immersion bath in juveniles of *R. quelen*. Immersion baths for silver catfish ($2,99 \pm 0,62$ g; $3,01 \pm 0,157$ cm) were performed at four different concentrations: 0, 250, 500 and 750 mg toltrazuril / L. The concentrations used were determined through a tolerance test using the same experimental methodology, but without the individuals being infested. There were three baths lasting 4 h and a 24 h interval between them. The experiment had a total duration of 192 h. For the infested individuals, in the first bath, the concentration of 0 mg / L presented a greater number of trophonts (821 ± 273) in relation to all concentrations tested, followed by the concentration 250 mg / L (702 ± 161). Concentrations of 500 and 750 mg / L showed a lower number of trophonts (154 ± 27 and 165 ± 75) and did not differ from each other. In subsequent baths of 48 and 72 h, a significant increase of trophonts was observed in concentrations 0 mg / L (1370 ± 827 to 1579 ± 329) and 250 mg / L (489 ± 97 to 1073 ± 435) when compared to concentrations 500 mg / L (149 ± 56 to 136 ± 33) and 750 mg / L (91 ± 31 to 88 ± 30), respectively. The efficacy of toltrazuril was observed in baths at concentrations of 500 and 750 mg / L with infestation reduction of 91 and 94%, but during 192 h, fish mortality was verified for all concentrations tested: 100% for 250 and 750 mg / L, 90% for 0 mg / L and 76.6% for 500 mg / L. For the tolerance test, without the fish being infested, mortality was observed only at concentrations of 500 and 750 mg / L, with rates of 6.67% and 16.67%, respectively. Despite the reduction in the number of trophonts at concentrations of 500 and 750 mg / L, toltrazuril cannot be recommended for the treatment of *R. quelen* against *I. multifiliis* due to the high mortality observed in the treatment, being recommended the search for alternative products to be used in baths.

Key words: parasite, ichthyophthiriasis, efficacy, Baycox®, immersion bath, white spot disease.

1.Introdução

Ichthyophthirius multifiliis (Fouquet, 1876) é um parasita ciliado que causa a doença dos pontos brancos (ictiofitiríase), levando a grandes perdas econômicas na aquicultura de água doce (Dickerson e Clark, 1998; Picón-Camacho et al., 2012a). O parasita invade o epitélio da pele ou brânquia dos peixes, causando danos e úlceras nos locais parasitados, e as lesões causadas servem de porta de entrada para as infecções secundárias causadas por fungos e bactérias, levando à morte dos peixes (Wei et al., 2013; Xu e Klesius, 2004; Zhang et al., 2013).

O ciclo de vida do parasito inclui as fases trofante, tomonete, tomito e teronete (Matthews, 2005). O trofante é o estágio em que o parasito obrigatoriamente se alimenta do peixe. Ao amadurecer, o trofante deixa o peixe e se transforma em tomonete. Os tomonetes se aderem a substratos, onde se encistam e sofrem uma rápida divisão com a produção de várias centenas a milhares de tomitos, que se diferenciam em terontes infecciosos. Os terontes de natação livre penetram no epitélio dos peixes, tornando-se trofantes e os parasitam novamente (Dickerson e Clark, 1998; Dickerson e Findly, 2014; Matthews, 2005; Wei et al., 2013).

Para o combate às infestações de ictio, já foram testadas centenas de substâncias químicas sintéticas e naturais (Picón-Camacho et al., 2012a). As substâncias como verde de malaquita, formalina e metronidazol, são eficazes para controlar a ictiofitiríase, porém, o uso foi proibido devido as suas propriedades carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas para peixes, humanos e meio ambiente (Carneiro et al., 2006; Jaafar et al., 2013a; Picón-Camacho et al., 2012a).

O Baycox®, produto cujo princípio ativo é toltrazuril (1-metil-3-{3-metil-4-(4-(trifluorometil) phenoxy) phenyl}-1,3,5-triazine-2,4,6(1h,3h,5h)-trione) (Kim et al., 2010), é um composto químico orgânico sintético que atua na redução das enzimas succinato-citocromo C redutase, NADH oxidase e fumarato oxidase (Abdel-Hafez et al., 2014a). Estudos recentes com a sua utilização mostraram respostas imunes efetivas em teleosteos contra monogeneas (Buchmann, 2015). O composto anti-coccidia toltrazuril foi testado como profilático em truta-arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Picón-Camacho et al., 2012a), e recomendado para o tratamento de peixes contra o parasito ciliado *I. multifiliis* pelo banho intermitente (Schmahal et al., 1989), assim como para o tratamento das infestações causadas por monogenea (Schmahal et al., 1988).

Nos cultivos, as práticas mais comuns para tratar este ciliado são através de tratamentos com banhos de imersão, com duração curta que varia de 30 min a 4 h, ou com duração longa feita entre 7 e 15 dias de tratamento, buscando sempre eliminar os estágios de natação livre (Picón-Camacho et al., 2012a). Até o momento, não há relato de uso do toltrazuril para tratar *I. multifiliis* em juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824).

O jundiá apresenta bom desempenho de crescimento tanto no inverno quanto no verão da região Sul do Brasil (Piaia e Baldisserotto, 2000), sendo atualmente a espécie nativa mais cultivada no estado de Santa Catarina (Epagri/Cedap, 2013). A produção do jundiá vem sendo comprometida pela infestação frequente do parasito *I. multifiliis* (Garcia et al., 2011; Zaniboni-Filho e Nuñez, 2012; Tancredo et al., 2015). Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes banhos terapêuticos com concentrações do coccida toltrazuril (Baycox®) no tratamento do parasito *I. multifiliis* em juvenis de *R. quelen* por banho de imersão.

2. Material e Métodos

2.1. Animais experimentais

Os juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* foram obtidos a partir de desova artificial de reprodutores provenientes do Alto rio Uruguai e pertencentes ao Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixe de Água Doce (LAPAD), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Foi utilizado o total de 264 juvenis ($2,99 \pm 0,62$ g; $3,01 \pm 0,157$ cm) com cerca de 30 dias de idade.

O experimento foi realizado no mesmo laboratório, segundo procedimentos aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA / UFSC, protocolo nº 9261190717.

2.2. Teste de toxicidade de toltrazuril em juvenis de jundiá

No ensaio de toxicidade, 120 juvenis de *R. quelen* ($2,45 \pm 0,12$ g e $6,27 \pm 0,10$ cm) foram aclimatados por 15 dias em sistema de recirculação de água ($25,0 \pm 4,1$ °C). Decorrido o período de aclimação, o ensaio foi conduzido usando delineamento experimental inteiramente casualizado em triplicata, nas concentrações: 0, 250, 500 e 750 mg toltrazuril/L, porém, com os peixes isentos de infestação por ictio.

Os peixes de cada unidade experimental foram transferidos para um recipiente plástico com volume total de 4L, totalizando 12

recipientes plásticos que foram dispostos em banho-maria em um tanque de volume de 500L mantido com aeração e temperatura controlada ($25,19 \pm 0,30$ °C). Nesses recipientes plásticos, foram realizados três banhos sequenciais de imersão com intervalo de 24 h entre eles, sendo que cada banho teve duração de 4 h.

Ao final de cada banho de 4 h, os peixes foram transferidos para um recipiente idêntico e com iguais condições de qualidade de água, porém isenta de toltrazuril. Após cada utilização os recipientes foram lavados para uso posterior e os peixes foram observados até 192 h após o início dos banhos de imersão. Foi avaliada diariamente a mortalidade ocorrida em cada unidade experimental, assim como o comportamento dos peixes pela observação e contagem da frequência de batimento opercular, posição ocupada pelos peixes no tanque, intensidade da atividade natatória durante os banhos terapêuticos e, posteriormente, foi avaliado o tempo de resposta parcial e total da recuperação do equilíbrio da natação, estendendo essa avaliação até 192 horas, seguindo procedimentos descritos por (Vidal et al., 2008).

2.3. Infestação dos juvenis

Foi ofertada uma quantidade diária de ração comercial extruzada (Guabi - 45% de proteína bruta, diâmetro de 1 mm) equivalente a 2% da biomassa dos peixes, duas vezes ao dia.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e realizado em triplicata. Os peixes em desafio foram distribuídos em 12 tanques-rede com volume útil de 10L, contendo 22 juvenis em cada tanque. Os tanques-rede estavam acondicionados em uma caixa de 1000L ligada a um sistema fechado de recirculação de água. A infestação foi realizada pelo método de coabitação por 5 dias com juvenis de carpa-capim *Ctenopharingodon idella* (n=40) parasitados com *I. multifiliis*. Os peixes (carpa-capim) infestados foram mantidos fora dos tanques-rede, seguindo a metodologia descrita por Abdel-Hafez et al. (2014b). Os juvenis de carpa-capim foram obtidos de uma unidade experimental de piscicultura e já se encontravam infestados com *I. multifiliis*. Após 5 dias de infestação foi observada uma redução no consumo da ração pelos peixes experimentais.

Antes do início do experimento, seguindo procedimento descrito para testes de infestação (Bush et al., 1997; Farmer et al., 2013; Ventura et al., 2013), foi realizada avaliação parasitológica inicial. Na avaliação parasitológica é calculada a taxa de prevalência [taxa de prevalência = (número de peixes infectados / número de peixes analisados) x 100)] e a intensidade média [intensidade média = (número total de uma espécie de

parasito na amostra / número de peixes infectados por aquele parasito)]. A análise parasitológica inicial revelou taxa de prevalência de 0% nos juvenis de jundiá e de 100% nos juvenis de carpa-capim.

1.4. Efeito do toltrazuril contra a infestação por *I. multifiliis*

Para avaliar o efeito do toltrazuril (Baycox® - Bayer Animal Health GmbH, Leverkusen - Alemanha) no tratamento de juvenis de jundiá infectados com *I. multifiliis*, foram realizados banhos de imersão em soluções com diferentes concentrações: 0, 250, 500 e 750 mg toltrazuril/L.

Após a comprovação da infestação dos juvenis de jundiá, os peixes de cada unidade experimental foram transferidos para um recipiente plástico com volume total de 4L, totalizando 12 recipientes plásticos que foram dispostos em banho-maria em um tanque de volume de 500L mantido com aeração e temperatura controlada ($25,19 \pm 0,30$ °C). Nesses recipientes plásticos, foram realizados três banhos sequenciais de imersão com intervalo de 24 h entre eles, sendo que cada banho teve duração de 4 h.

Ao final de cada banho de 4 h, os peixes foram transferidos para um recipiente idêntico e com iguais condições de qualidade de água, porém, sem infestação por ictio e isenta de toltrazuril. Após cada utilização os recipientes receberam lavagem e desinfecção com cloro para uso nos banhos subsequentes.

Os peixes foram observados até 192 h após o início dos banhos de imersão. Durante este período, foi avaliada a porcentagem de redução da infestação, taxa de prevalência, incidência média, mortalidade diária e mortalidade acumulada. A porcentagem de redução da infestação foi calculada de acordo com a fórmula descrita por Farmer et al. (2013): Porcentagem de redução (%) = $(NPGC - NPGT) / NPGC \times 100$ (Onde NPGC é o número médio de parasitas no grupo controle e NPGT o número médio de parasitas no grupo tratado).

2.5. Contagem dos trofontes

Imediatamente, e depois de cada um dos três banhos, três exemplares de peixe de cada réplica foram aleatoriamente retirados e eutanasiados (eugenol 100 mg/L) para a avaliação parasitológica do muco da superfície do corpo e do grau de infestação e sem reposição dos peixes, seguindo procedimento usual (Farmer et al., 2013; Klesius, 2002). O tegumento de cada peixe foi raspado desde a cabeça até a nadadeira caudal com auxílio de lâmina e pinça, sendo que o muco coletado em placas de Petri foi posteriormente transferido para frascos

de vidro contendo 50 ml de álcool 70%. A constatação da presença dos parasitos e sua quantificação foram realizadas por meio de observação em microscópio óptico (Leica DME objectiva 4x/0.10) com auxílio de câmara de Sedgewick-Rafter Cell S50, de acordo com a metodologia descrita por Ibrahim e Ismail (2009).

Na avaliação parasitológica inicial, realizada após a infestação dos juvenis de jundiá pela coabitação com peixes infestados e antes do início dos banhos terapêuticos, o único parasito encontrado nos jundiás foi o *I. multifiliis*, com taxa de prevalência de 100%. Os peixes sobreviventes após as 192 h de experimento foram igualmente submetidos a essa avaliação parasitológica.

2.6. Qualidade da água

Parâmetros de qualidade da água como temperatura, oxigênio dissolvido (OD), pH e salinidade foram medidos com sonda multiparâmetros YSI Model 63 e YSI Model 550A (Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, EUA). Para avaliação dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato) e alcalinidade, foi utilizado o kit colorimétrico (Alfakit - fotoclorimetro AT 10P Microprocessado, Brasil). Durante a fase de infestação, a temperatura média da água (\pm desvio padrão) foi de $24,6 \pm 1,60$ °C, o OD de $7,54 \pm 0,48$ mg/L, o pH de $7,28 \pm 0,33$, e a salinidade de 0 ppt. A amônia total foi de $0,36 \pm 0,32$ mg/L, o nitrito de $0,03 \pm 0,02$ mg/L, o nitrato de $1,48 \pm 0,75$ mg/L enquanto que a alcalinidade foi de $40,46 \pm 5,75$ mg CaCO₃/L, esses parâmetros são ideias para a espécie de acordo com Baldisserotto e Silva,(2004).

2.7. Análise estatística

Após verificação da normalidade e homocedasticidade, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey quando encontradas diferenças significativas, a nível de significância de 5%. Também foi aplicada regressão linear simples para avaliar a existência da relação entre as concentrações e o número de trofontes. Todas as análises foram feitas com auxílio do programa computacional Statistica® versão 7.0.

3. Resultados

3.1. Infestação dos juvenis de jundiá e eficiência do toltrazuril contra o *I. multifiliis*

Houve a infestação de todos os juvenis de jundiá submetidos a infestação experimental por ictio por meio de coabitação com peixes naturalmente infestados. O número de trofontes presente nos peixes antes e depois dos banhos de imersão está disposto na Tabela 1. Na avaliação inicial, feita imediatamente antes de iniciar os banhos de imersão, o número de trofontes nos peixes foi semelhante ($p > 0,05$) em todos os tratamentos. Para os peixes controle, observou-se aumento do número de trofontes em relação a todas as concentrações. Nas concentrações 500 e 750 mg/L, houve gradativa redução da infestação inicial ao longo de todo o período experimental.

Os resultados mostraram que há uma correlação negativa entre as concentrações testadas e o número de trofontes (Figura 1), pois a medida que se aumentavam as concentrações de toltrazuril, o número de trofontes era reduzido de forma gradativa. A porcentagem de redução da infestação foi de 32% nos peixes tratados com 250 mg/L, passando para 91 e 94% nos peixes tratados com 500 e 750mg/L de toltrazuril, respectivamente.

Tabela 1. Número de trofontes (média \pm DP) de *Ichthyophthirius multifiliis* em juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* (n=22) submetidos a banho por imersão com toltrazuril em diferentes concentrações (0, 250, 500 e 750 mg/L).

Concentração toltrazuril (mg/L)	Tempo (h)				
	0	24	48	72	192
0	409 \pm 158 ^{aC}	821 \pm 273 ^{aBC}	1370 \pm 827 ^{bAB}	1579 \pm 329 ^{aA}	1465 \pm 487 ^{aAB}
250	445 \pm 197 ^{aB}	702 \pm 161 ^{aB}	489 \pm 97 ^{bB}	1073 \pm 435 ^{bA}	-----
500	524 \pm 135 ^{aA}	154 \pm 27 ^{bB}	149 \pm 56 ^{bB}	136 \pm 33 ^{cB}	97 \pm 38 ^{bB}
750	516 \pm 125 ^{aA}	165 \pm 75 ^{bB}	91 \pm 31 ^{bB}	88 \pm 30 ^{cB}	-----

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos a cada intervalo de tempo (colunas), e letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) ao longo do tempo no mesmo tratamento (linhas). ---: mortalidade de 100% nos tratamentos.

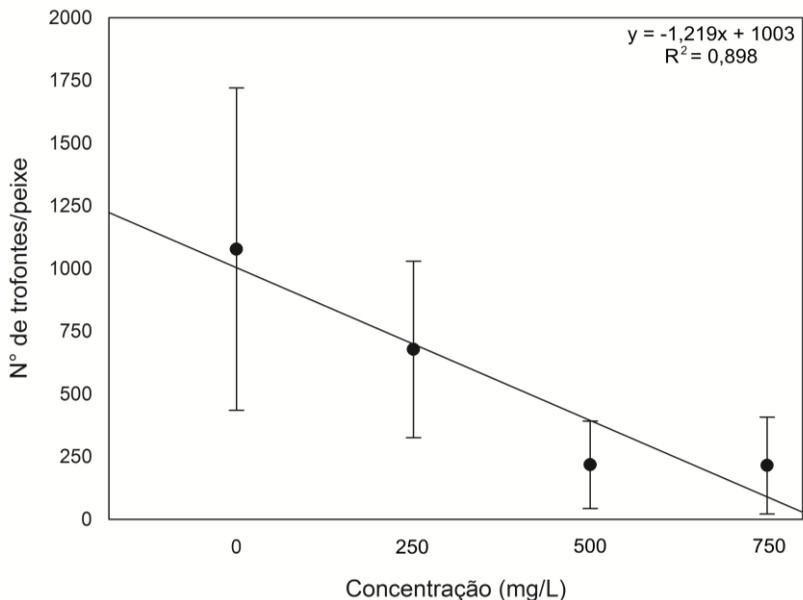


Figura 1. Relação da concentração e do número de trofozoítos de *Ichthyophthirius multifiliis* durante banhos terapêuticos com toltrazuril em diferentes concentrações (0, 250, 500 e 750 mg/L) em juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* (n=22).

3.2. Mortalidade acumulada

Decorridas as 192 h da experimentação, as concentrações 0 e 500 mg/L tiveram mortalidade de 90 e 76%, respectivamente. Já os tratamentos com 250 e 750 mg/L apresentaram mortalidade de 100% no mesmo período (Figura 2).

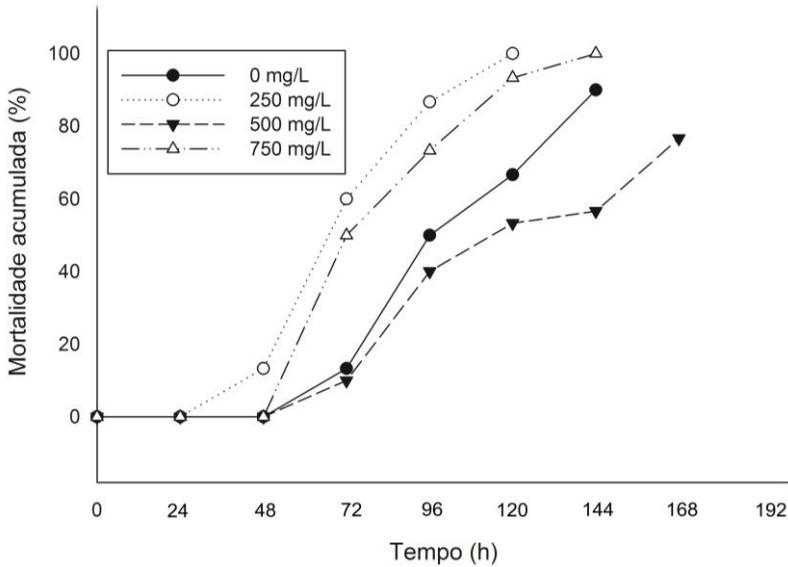


Figura 2. Mortalidade acumulada (%) de juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* (n = 22) infestados por *Ichthyophthirius multifiliis* submetidos a diferentes concentrações de toltrazuril (0, 250, 500 e 750 mg/L).

3.3. Taxa de prevalência e intensidade média de infestação por *I. multifiliis*

Foi observada a prevalência de 100% de trofontes nos peixes submetidos a todos os tratamentos e durante todo o período experimental (Tabela 2). A intensidade da infestação foi afetada de maneira inversamente proporcional à concentração de toltrazuril utilizada, havendo uma redução expressiva da intensidade de infestação nas maiores concentrações testadas.

3.4. Tolerância do jundiá ao toltrazuril

Durante a exposição dos juvenis de jundiá não infestados ao banho de imersão feito ao longo de 4 h, foi observado aumento na frequência respiratória dos peixes submetidos às maiores concentrações de toltrazuril (500 e 750 mg/L). Após o término do tratamento, quando os peixes foram removidos do banho terapêutico, lentamente a frequência respiratória voltou à normalidade. Apenas nas concentrações 500 e 750 mg/L de toltrazuril foi observado a mortalidade, nas taxas de 6,67 e 16,67%, respectivamente (Tabela 3).

4. Discussão

Neste trabalho, os banhos de imersão contendo toltrazuril reduziram a infestação dos peixes pelo ictio, havendo uma relação direta entre a concentração da substância e a redução da infestação. No entanto, não houve a completa eliminação do parasita da pele dos peixes tratados. Resultados semelhantes de redução parcial da infestação pelo *I. multifiliis* foi observado em , carpas, trutas e enguia, tratados com banhos de imersão contendo toltrazuril (Schmahl et al., 1988). Já outros autores observaram a eliminação completa dos trofontes da pele dos peixes tratados com esses banhos feitos com pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Carraschi et al., 2014) e com enguia (*Anguilla anguilla*) (Schmahl e Mehlhorn, 1989). Testes realizados *in vitro* com *I. multifiliis* revelaram que a concentração de 200 mg/L de toltrazuril foi suficiente para inibir a reprodução dos tomontes, porém, essa mesma dose aplicada em banhos de imersão (3 h) em *Oncorhynchus mykiss* (10-25 cm de comprimento) infestados não foi efetiva no combate a infestação por ictio (Tojo et al., 1994). Para testes *in vivo*, a dosagem de toltrazuril necessária para o tratamento de infestações por *I. multifiliis* é bastante variável entre distintas espécies de peixes. Enquanto Schmahl et al. (1988) recomendam o uso de banhos contendo 100 mg/L para reduzir a infestação parasitária em carpa e enguias, Carraschi et al. (2014) obtiveram a eliminação completa do *I. multifiliis* em pacu *P. mesopotamicus* (40.37 g) quando utilizaram apenas 3 mg/L de toltrazuril. A eliminação completa do ictio em enguias *A. Anguilla* (310-360 mm de comprimento) foi obtida com banhos sucessivos contendo entre 100 e 200 mg/L de toltrazuril (Schmahl e Mehlhorn, 1989). Alguns autores têm recomendado o uso de banhos de imersão sequencias e intercalados a cada 24 h (Schmahl e Mehlhorn, 1989), de modo a maximizar o efeito terapêutico do toltrazuril no tratamento contra a infestação de *I. multifiliis*, já que o uso da substância aplicada em único banho pode não ser efetiva (Tojo et al., 1994).

De acordo com Schmahl et al. (1989), o efeito tóxico do toltrazuril é manifestado pela destruição da membrana celular externa do parasita, afetando os cílios e as mitocôndrias deste, causando assim prejuízo severo no sistema respiratório e a consequente morte dos parasitos. Outra via que pode justificar a redução da infestação pelo *I. multifiliis* com o tratamento feito com toltrazuril é a alteração dos fatores humorais dentro da pele, fazendo com que os trofontes sejam forçados a sair do hospedeiro prematuramente (Clark e Dickerson, 1997; Dickerson e Findly, 2014).

Para o teste de toxicidade, quando a concentração do produto atingiu 500 e 750 mg/L, houve aumento da taxa respiratória dos peixes durante o banho terapêutico, sendo observados eventos de mortalidade entre 24 e 48 h após o tratamento. Utilizando concentrações 50-90mg/L em banho de imersão realizado com, enguias (310 – 360 mm) Schmahl e Mehlhorn (1989) não observaram nenhum efeito de toxicidade e nem alteração do comportamento durante duas horas de observação. Resultado semelhante foi observado com *Gasterosteus aculeatus*, porém a máxima concentração testada foi de 100 mg toltrazuril/L (Schmahl e Senaud,1996).

A concentração de 750mg toltrazuril/L foi eficiente na redução da infestação do *I. multifiliis* em juvenis de jundiá, porém a mesma foi 100% letal para os peixes infestados. Resultado semelhante foi observado para truta *O. mykiss* (From et al., 1992), onde a concentração de 50 mg toltrazuril/L necessária para controlar o *I. multifiliis* foi a mesma que causou a mortalidade de 100% dos peixes.

Em conclusão, o estudo mostrou que o toltrazuril apresenta efeito deletério contra o parasito *I. multifiliis*, pois as concentrações de 500 e 750 mg/L causaram redução no número de trofontes de 91 e 94%, respectivamente. Apesar disso, o tratamento causa elevada mortalidade dos peixes e não pode ser recomendado para o tratamento de juvenis de jundiá *R. quelen* infestados por *I. multifiliis*. É recomendada a realização de testes com produtos alternativos na forma de banhos de imersão ou suplementação na dieta para o combate ao ictio em jundiá.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado e apoiado pelo Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD / UFSC), FAPEU e Instituto Superior Politecnico de Gaza- Chókwè-Moçambique através do Projeto NICHE/MOZ/150.

Referências

- Abdel-Hafez, G., Lahnsteiner, F., Mansour, N., 2014a. Possibilities to control *Ichthyophthirius multifiliis* infestation with medicated feed in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and chub (*Leuciscus cephalus*). Parasitol. Res. 113, 1119–1126. doi:10.1007/s00436-013-3749-9
- Abdel-Hafez, G., Lahnsteiner, F., Mansour, N., Licek, E., 2014b. Pathophysiology of *ichthyophthirius multifiliis* infection in

- rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) and chub (*leuciscus cephalus*). J. Comp. Pathol. 151, 394–399. doi:10.1016/j.jcpa.2014.08.003
- Baldisserotto, B., Silva, L.V.F., 2004. Qualidade da água. In: Baldisserotto, B., Radunz Neto, J. (Eds.), Criação de jundiá vol. 1. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, pp. 73–92
- Buchmann, K., 2015. Impact and control of protozoan parasites in maricultured fishes. Parasitology 142, 168–177. doi:10.1017/S003118201300005X
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. J. Parasitol. 83, 575. doi:10.2307/3284227
- Carneiro, P.C.F., Cirio, S.M., Schorer, M., 2006. Estudo anatomopatológico de alevinos de jundiá infectados experimentalmente por *Ichthyophthirius multifiliis* e submetidos a tratamentos convencionais. Arch. Vet. Sci. 11, 33–38. doi:10.5380/avs.v11i1.5620
- Carraschi, S.P., Barbuio, R., Ikefuti, C.V., Florêncio, T., da Cruz, C., Ranzani-Paiva, M.J.T., 2014. Effectiveness of therapeutic agents in disease treatment in *Piaractus mesopotamicus*. Aquaculture 431, 124–128. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.12.026
- Clark, T.G., Dickerson, H.W., 1997. Antibody-mediated effects on parasite behavior: Evidence of a novel mechanism of immunity against a parasitic protist. Parasitol. Today 13, 477–480. doi:10.1016/S0169-4758(97)01152-6
- Dickerson, H., Clark, T., 1998a. *Ichthyophthirius multifiliis*: A model of cutaneous infection and immunity in fishes. Immunol. Rev. 166, 377–384. doi:10.1111/j.1600-065X.1998.tb01277.x
- Dickerson, H.W., Findly, R.C., 2014a. Immunity to *Ichthyophthirius* infections in fish: A synopsis. Dev. Comp. Immunol. 43, 290–299. doi:10.1016/j.dci.2013.06.004
- EPAGRI/CEDAP, 2013. Síntese da produção da piscicultura

Catarinense. Texto desenvolvido em 2013 pelos técnicos da Epagri/ Cedap. 2013.p-3. Florianópolis
[http://www.epagri.sc.gov.br/wp-content/uploads/2013/08/A
 PRODU%C3%87%C3%83O-E-A-EVOLU%C3%87%C3%83O-
 DA-Piscicultura-Catarinense-em-2012.p](http://www.epagri.sc.gov.br/wp-content/uploads/2013/08/A%20PRODU%C3%87%C3%83O-E-A-EVOLU%C3%87%C3%83O-DA-Piscicultura-Catarinense-em-2012.p)

- Farmer, B.D., Fuller, S.A., Mitchell, A.J., Straus, D.L., Bullard, S.A., 2013. Efficacy of Bath Treatments of Formalin and Copper Sulfate on Cultured White Bass, *Morone chrysops*, Concurrently Infected by *Onchocleidus mimus* and *Ichthyophthirius multifiliis*. J. World Aquac. Soc. 44, 305–310. doi:10.1111/jwas.12027
- From .J; Karas.N; Vordeermeier.T., 1992 From - Trials with toltrazuril against ictio Fish Pathol v12 (4) p137.
- Garcia, L.O., Becker, A.G., Bertuzzi, T., Cunha, M.A., Kochhann, D., Finamor, I.A., Riffel, A.P.K., Llesuy, S., Pavanato, M.A., Baldisserotto, B., 2011. Oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles infected with *Ichthyophthirius multifiliis* and maintained at different levels of water pH. Vet. Parasitol. 178, 15–21. doi:10.1016/j.vetpar.2010.12.039
- Ibrahim, T.B., Ismail, M.M., 2009. Protection of Goldfish (*Carassius auratus*) Against *Ichthyophthirius multifiliis* by Immunization with Live Theronts , Trophonts and Sonicated Trophonts 3, 329–334.
- Jaafar, R.M., Buchmann, K., 2011. Toltrazuril (Baycoxreg; vet.) in feed can reduce *Ichthyophthirius multifiliis* invasion of rainbow trout (Salmonidae). Acta Ichthyol. Piscat. 41, 63–66. doi:10.3750/AIP2011.41.1.09
- Jaafar, R.M., Kuhn, J.A., Chettri, J.K., Buchmann, K., 2013. Comparative efficacies of sodium percarbonate, peracetic acid, and formaldehyde for control of *Ichthyobodo necator* an ectoparasitic flagellate from rainbow trout. Acta Ichthyol. Piscat. 43, 139–143. doi:10.3750/AIP2013.43.2.06
- Kim, M.S., Lim, J.H., Hwang, Y.H., Park, B.K., Song, I.B., Yun, H.I., 2010. Plasma disposition of toltrazuril and its metabolites, toltrazuril sulfoxide and toltrazuril sulfone, in rabbits after oral

administration. Vet. Parasitol. 169, 51–56.
doi:10.1016/j.vetpar.2009.12.011

- Klesius, P.H., 2002. Antibody mediated immune response against *Ichthyophthirius multifiliis* using excised skin from channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), immune to *Ichthyophthirius* 299–306.
- Ling, F., Lu, C., Tu, X., Yi, Y., Huang, A., Zhang, Q., Wang, G., 2013. Antiprotozoal screening of traditional medicinal plants: Evaluation of crude extract of *Psoralea corylifolia* against *Ichthyophthirius multifiliis* in goldfish. Parasitol. Res. 112, 2331–2340. doi:10.1007/s00436-013-3397-0
- Matthews, R.A., 2005. *Ichthyophthirius multifiliis* fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. Adv. Parasitol. 59, 159–241. doi:10.1016/S0065-308X(05)59003-1
- Picón-Camacho, S.M., Marcos-Lopez, M., Bron, J.E., Shinn, A.P., 2012. An assessment of the use of drug and non-drug interventions in the treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876, a protozoan parasite of freshwater fish, Parasitology. doi:10.1017/S0031182011001867
- Piaia, R., Baldisserotto B., 2000. Densidade de estocagem e crescimento de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824).2000. Ciência Rural, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 509-513. ISSN 0103-8478.
- Schmahl, G., Mehlhorn, H., Haberkorn, A., 1988. Sym. Triazinone (toltrazuril) effective against fish-parasitizing Monogenea. Parasitol. Res. 75, 67–68. doi:10.1007/BF00931193
- Schmahl, G., Mehlhorn, H., Taraschewski, H., 1989a. Treatment of fish parasites. The Effects of sym. Triazinone (Toltrazuril) on Fish parasitic Ciliophora (*Ichthyophthirius multifiliis* FOUQUET, 1876, *Apiosoma amoeba Grenfell*, 1884, Trichodina sp. Ehrenberg, 1831. Europ. J. Protistol. 24, 152-161.
- Schmahl, G., Taraschewski, H., Mehlhorn, H., 1989b. Chemotherapy of fish parasites. Parasitol. Res. 75, 503–511.

doi:10.1007/BF00931157

- Schmahl, G., Senaud, J., 1996. Effects of an asymmetric triazine derivative, HOE 092 V, on *Glugea anomala*, Moniez, 1887 (Microsporidia) parasitic in the three-spined *stickleback* *Gasterosteus aculeatus*. Parasitol. Res. 82, 225–229. doi:10.1007/s004360050100
- Tancredo, K.R., Gonçalves, E.L.T., Brum, A., Acchile, M., Hashimoto, G.S.O., Pereira, S.A., Martins, M.L., 2015. Hemato-immunological and biochemical parameters of silver catfish *Rhamdia quelen* immunized with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. Fish Shellfish Immunol. 45, 689–694. doi:10.1016/j.fsi.2015.05.024
- Tojo, J.L., Santamarina, M.T., Ubeira, F.M., Leiro, J., Sanmartin, M.L., 1994. Trials for the control of Ichthyophthiriosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 14, 148–152.
- Ventura, A.S., Jerônimo, G.T., Luiz, E., Gonçalves, T., 2013. Fauna parasitária dos híbridos siluriformes cachapinta e jundiara nos primeiros estágios de desenvolvimento 943–949. doi:10.1590/S0100-204X2013000800019
- Vidal, L.V.O., Albinati, R.C.B., Albinati, A.C.L., De Lira, A.D., De Almeida, T.R., Santos, G.B., 2008. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. Pesqui. Agropecu. Bras. 43, 1069–1074. doi:10.1590/S0100-204X2008000800017
- Wei, J.Z., Li, H., Yu, H., 2013. Ichthyophthiriasis: Emphases on the epizootiology. Lett. Appl. Microbiol. 57, 91–101. doi:10.1111/lam.12079
- Xu, D.H., Klesius, P.H., 2004. Two year study on the infectivity of *Ichthyophthirius multifiliis* in channel catfish *Ictalurus punctatus*. Dis. Aquat. Organ. 59, 131–134. doi:10.3354/dao059131
- Zaniboni-Filho, E., Nuñez A.P. O., 2012. Reservatório de Machadinho: peixes, pesca e tecnologias de criação,. Editora UFSC, Florianopolis. 256p. ISBN 978-85-328-0594-2

Zhang, Q., Xu, D.H., Klesius, P.H., 2013. Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Galla chinensis* against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Vet. Parasitol.* 198, 45–53. doi:10.1016/j.vetpar.2013.08.019

CAPÍTULO II

Aquaculture

Fator de impacto 2,009 e qualis A2.

Benefícios do toltrazuril e do derivado de biomassa cítrica ofertado na dieta de juvenis de jundiá (*Rhamdia branneri*) para prevenção de infestação pelo *Ichthyophthirius multifiliis*

Highlights

- A inclusão de 2 mg toltrazuril/g ou 200 mg BioGermex®/g na dieta de juvenis de *R. branneri* reduzem 50% a infestação por *I. multifiliis*.
- A inclusão de 4 mg/g de toltrazuril na dieta reduziu o desempenho zootécnico de juvenis *R. branneri*.
- A inclusão dos produtos (toltrazuril ou biogermex) na ração é um método profilático eficiente no controle da infestação por *I. multifiliis*.

Resumo

Ichthyophthirius multifiliis é um parasita ciliado que provoca grandes perdas econômicas na aquicultura. Neste estudo foi testada a eficácia do toltrazuril (Baycox®) e do fitoterápico a base de biomassa cítrica (BioGermex®) incorporado na dieta para a prevenção de ictiofitiríase em juvenis de jundiá *Rhamdia branneri*. Foram usadas duas concentrações de toltrazuril (TT 2 e 4 mg/g) e duas concentrações de BioGermex® (BIO 150 e 200 mg/g), além de um controle negativo e um controle positivo, totalizando seis tratamentos com três repetições. Os juvenis ($4,47 \pm 0,21$ g; $8,03 \pm 0,10$ cm) de cada tratamento foram alimentados (2% da biomassa) durante 15 dias e posteriormente expostos a infestação experimental por *I. multifiliis* a partir de coabitação com peixes naturalmente infestados por 10 dias, em uma temperatura média de $20,67 \pm 1,39$ °C. O estudo revelou que o toltrazuril em ambas as concentrações testadas e o fitoterápico na concentração de 200 mg/g de ração foram eficazes na redução do grau de infestação por trofontes de *I. multifiliis* em juvenis de jundiá. Os tratamentos TT 2 mg/g e BIO 200 mg/g propiciaram melhor taxa de crescimento específico, melhores taxas de conversão e eficiência alimentar e maior ganho de peso diário. Apesar do tratamento TT 4 mg/g ter mostrado maior redução do grau de infestação de trofontes do que os demais tratamentos, apresentou baixo desempenho na taxa de crescimento específico, na eficiência alimentar e no ganho de peso diário. Assim, de acordo com os resultados encontrados, recomenda-se o uso de toltrazuril 2mg/g ou do fitoterápico a base de biomassa cítrica na concentração de 200 mg/g na dieta dos juvenis de jundiá *R. branneri*, pois estes não influenciaram o desempenho zootécnico e foram eficazes na redução da infestação por trofontes de *I. multifiliis*.

Palavras-chave: ictiofitiríase, fitoterápicos, infestação, medicamentos, profilaxia

Abstract

Ichthyophthirius multifiliis is a ciliate parasite that causes great economic losses in aquaculture. In this study, the efficacy of toltrazuril (Baycox®) and citrus biomass (BioGermex®) incorporated into the diet for the prevention of ichthyophthiriasis in silver catfish juveniles, *Rhamdia branneri*, was tested. Two concentrations of toltrazuril (TT 2 and 4 mg/g) and two concentrations of BioGermex® (BIO 150 and 200 mg / g) were used, besides a negative and a positive control, with the total of six treatments with three replicates. The juveniles ($4.47 \pm 0,21$ g, 8.03 ± 0.10 cm) of each treatment were fed (2% of their biomass) for 15 days and subsequently exposed to *I. multifiliis* infection by cohabitation with fish naturally infected for 10 days, at an average temperature of $20, 67 \pm 1.39$ °C. The study revealed that toltrazuril in both concentrations tested and the citrus biomass at a concentration of 200 mg/g of feed were effective in reducing the trophont of *I. multifiliis* infection in silver catfish juveniles. The treatments TT 2 mg/g and BIO 200 mg/g provided a better specific growth rate, better conversion rate and feed efficiency and greater daily weight gain. Although TT 4 mg / g showed a greater level of infection reduction than the other treatments, it presented poor performance for growth rate, feed efficiency and daily weight gain. According to the results obtained, it is recommended to use toltrazuril at 2mg / g or the citrus biomass at 200 mg/g, since these products did not influence the zootechnical performance of juveniles *R. branneri* and were effective in reducing the trophont of *I. multifiliis* infection.

Key words: ichthyophthiriasis, phytotherapeutics, infection, medication, prophylaxis

1.Introdução

O *Ichthyophthirius multifiliis* (itcio) é um protozoário parasita que invade a pele e as brânquias dos peixes de água doce, causa infiltração linfocítica localizada, necrose focal e vários graus de proliferação epitelial (Scholz, 1999, Maki et al., 2001, Ji-Hong et al., 2017). A ictiofítiríase, enfermidade causada por este ectoparasita também conhecida como doença dos pontos brancos, é comum e persistente em aquicultura, podendo causar até 100% de mortalidade em peixes juvenis e adultos, com perdas econômicas elevadas (Dickerson e Findly, 2014; Matthews, 2005).

O parasita ciliado *I. multifiliis* tem um ciclo de vida direto e com duração dependente da temperatura (Rowland et al., 2008), sendo que quanto maior a temperatura da água, mais rápido o ciclo de vida se completa (Harms, 1996; Picón-Camacho et al., 2012). O ciclo de vida envolve as fases de trofante, tomonte, tomito e teronte (Ewing e Kocan, 1992; Picón-Camacho et al., 2012; Wei et al., 2013). O estágio infestante (trofante) é coberto por uma camada de epiderme do hospedeiro que o protege de produtos químicos (Heinecke e Buchmann, 2009), assim o controle químico pode não ser efetivo depois que o parasita penetra na pele e brânquias dos peixes (Xu et al., 2008). Além disso, o tratamento químico é caro e pode prejudicar o próprio peixe, além de suscitar preocupação entre o público quanto à segurança alimentar e ambiental (Shinn et al., 2009). O controle específico de *I. multifiliis* por meio de drogas administradas via alimentos reduziria o prejuízo ambiental, porém, deve ser levado em consideração a fisiologia e a biologia molecular, tanto do parasita quanto do hospedeiro, para obtenção de maior eficiência (Wei et al., 2013).

Os tratamentos com alimentos medicados têm algumas vantagens: não são afetados pelos parâmetros da água de cultivo, são fáceis de administrar e assim menos estressantes para os peixes, têm um longo período de atividade, e os metabólitos gerados a partir dos produtos químicos administrados nos tecidos podem ser mais eficazes do que a forma original da droga (Abdel-Hafez et al., 2014a).

Para o combate às infestações de *I. multifiliis*, já foram testadas mais de uma centena de substâncias químicas sintéticas e naturais (Picón-Camacho et al., 2012). Entre elas o Baycox[®], no qual o princípio ativo é o toltrazuril (1-metil-3-{3-metil-4-(4-(trifluorometiltio) phenoxy) phenyl}-1,3,5-triazine-2,4,6(1h,3h,5h)-trione) (Kim et al., 2010; Lim et al., 2010), que é um composto químico orgânico sintético que atua na redução das enzimas succinato-citocromo C redutase, NADH oxidase e

fumarato oxidase (Abdel-Hafez et al., 2014b). Esse produto é amplamente utilizado na avicultura, bovinocultura, suinocultura entre outros, normalmente para o combate ao parasito ciliado *Eimeria* sp. (Diaferia et al., 2013; Epe et al., 2005).

Mesmo com esse grande número de substâncias já testadas para o tratamento e prevenção do ictio, o setor aquícola ainda está à procura de um produto comercialmente viável, preferencialmente natural, e que cause o menor dano possível ao meio ambiente (Picón- Camacho. et al., 2012). Nesse sentido, o fitoterápico à base de biomassa cítrica BioGermex®, é um produto orgânico que atua como bactericida e fungicida natural, sendo principalmente utilizado em atividades agrícolas. A fórmula química da biomassa cítrica é complexa, e de acordo com o fabricante é composta por bioflavonóides cítricos (vitamina P), fitoalexinas cítricas, ácido ascórbico (vitamina C), ácido cítrico, polipeptídeos cítricos, ácido palmítico, ácidos graxos diversos, açúcares, glicerídeos e tocoferóis. Assim, devido ao seu potencial bactericida e fungicida, talvez possa ter viabilidade na profilaxia e mesmo no tratamento contra o ictio para a piscicultura.

O jundiá *Rhamdia* sp. é um dos peixes de água doce mais cultivados no sul do Brasil devido principalmente ao seu fácil manejo e bom desempenho zootécnico (Tancredo et al., 2015). Um dos principais problemas na produção do jundiá é a ictiofitiríase (Garcia et al., 2011; Weingartner et al., 2012). Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência em prevenir a infestação pelo ectoparasito *I. multifiliis* em jundiá de linhagem comercial *Rhamdia branneri* a partir da inclusão na dieta do produto químico toltrazuril ou do fitoterápico à base de biomassa cítrica.

2. Material e Métodos

2.1. Peixes e condições experimentais

O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixe de Água Doce (LAPAD), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), segundo procedimento aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais CEUA / UFSC, protocolo nº 9261190717. Foram utilizados 180 juvenis de linhagem comercial *Rhamdia branneri* com cerca de 40 dias de idade ($4,47 \pm 0,21$ g; $8,03 \pm 0,10$ cm). Os juvenis foram adquiridos de uma piscicultura comercial situada no município de Ilhota, Santa Catarina, Brasil. A comprovação de que os peixes utilizados são da linhagem comercial de *R. branneri* foi realizada pelo

teste de DNA barcoding com voucher depositado no Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL-18115).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e realizado em triplicata. Os peixes foram distribuídos em quinze tanques-rede de volume útil de 10L, contendo 10 juvenis em cada tanque que receberam alimentação com os produtos teste durante 15 dias, para posterior desafio com ictio (*I. multifiliis*). Os 15 tanques-rede do desafio foram distribuídos em duas caixas de 1000L abastecidas por um mesmo sistema de recirculação de água.

2.2. Alimentação profilática com toltrazuril e fitoterápico cítrico

Foi ofertada uma quantidade diária de ração comercial extrusada (Guabi, 45% de proteína bruta, diâmetro de 1 mm) equivalente a 2% da biomassa dos peixes, contendo adição de toltrazuril ou da biomassa cítrica. Foram usadas duas concentrações de toltrazuril (TT2 e TT4: 2 e 4mg de Baycox®/g de ração, respectivamente) e duas concentrações do fitoterápico a base de biomassa cítrica (BIO150 e BIO200: 150 e 200 mg de BioGermex®/g de ração, respectivamente), um controle negativo (CN) (ração hidratada com água deionizada) e um controle positivo (CP) (ração inalterada). Para administrar essas substâncias na ração, foi utilizado o volume aproximado de 27 ml de água deionizada para 200 gramas de ração, e igual quantidade foi utilizada para o CN. A biomassa cítrica foi dissolvida com auxílio de agitador magnético. A hidratação da ração contendo ou não os produtos testados foi feita por meio de borrifador, sendo os grânulos de ração misturados continuamente para garantir a homogeneidade da hidratação. As rações hidratadas e aquela utilizada para o CP foram posteriormente armazenadas em freezer (-4 °C). Os peixes foram aclimatados por sete dias nos tanques experimentais antes de iniciar os tratamentos, sendo nesse período alimentados com a mesma ração comercial inalterada.

2.3. Avaliação do desempenho zootécnico

Antes de iniciar a alimentação profilática e a posterior infestação, os peixes foram submetidos a jejum de 24 h para a realização das biometrias, e o mesmo procedimento foi repetido ao término dos 15 dias do período de alimentação. A avaliação do desempenho zootécnico dos peixes sob os diferentes tratamentos alimentares foi realizada por meio das seguintes análises: Ganho em comprimento (GC, cm = comprimento final- comprimento inicial); Ganho em peso (GP, g = peso final – peso inicial); Ganho de peso diário (GPD, g = ganho em peso /dias de cultivo); Taxa de crescimento específico (TCE, % = $\frac{(\ln \text{ peso final} - \ln$

peso inicial) / dias de cultivo] x 100}; Eficiência alimentar (EA, % = [(peso final - peso inicial) / total de ração fornecida]; Conversão alimentar (CA = [total de ração fornecida / (peso final - peso inicial)]; Fator de condição (FC = [(peso corporal / comprimento³) x 100]; Sobrevivência (Sobrev. % = [(número final de peixes) / (número inicial de peixes) x 100]; Coeficiente de variação do peso (CV % = [(desvio padrão / média) x 100]. Esses parâmetros foram calculados para todos os grupos, exceto para o CP, que foi utilizado exclusivamente para a comparação do número de trofontes presentes nos peixes durante a fase de infestação, segundo metodologia recomendada (Verdal et al., 2017; Ahmed, 2010; Salhi et al., 2004; Jorgensen e Jobling, 1993).

2.4. Infestação experimental e avaliação da eficiência do químico e do fitoterápico contra o *I. multifiliis*

Para a infestação, os peixes foram mantidos em tanques-rede e distribuídos aleatoriamente em dois tanques de 1000L cada, ambos os tanques abastecidos pelo mesmo sistema fechado de recirculação de água, contendo biofiltro e uma bomba de capacidade de 2000 L/hora.

A infestação foi realizada pelo método de coabitação, utilizando juvenis de carpa-capim, *Ctenopharingodon idella*, (n=40) parasitados com *I. multifiliis*, mantidos fora dos tanques-rede (Abdel-Hafez et al., 2014b; Abdel-Hafez et al., 2014a; Xu et al., 2007). Os juvenis de carpa-capim foram obtidos de uma unidade experimental de piscicultura e já estavam infestados com ictio.

Os peixes foram expostos à infestação pelo período de 10 dias, quando foram alimentados diariamente até a saciedade aparente com ração comercial (45% de proteína), a mesma utilizada para CP. Duas vezes ao dia foi observada a presença de peixes mortos, que eram retirados imediatamente e registrada a informação para avaliação da taxa de mortalidade diária. Após os 10 dias de coabitação, o experimento foi encerrado e os peixes vivos remanescentes foram eutanasiados por overdose em eugenol (100 mg/L).

Tanto no início quanto no final do experimento, baseando-se no método descrito por Bush et al. (1997) e Jeronimo et al. (2013), foi realizada avaliação parasitológica e registrada a taxa de prevalência (número de peixes infectados / número de peixes analisados x 100).

2.5. Contagem dos trofontes

Passados três dias do início da fase de coabitação, foi retirado um peixe de cada repetição do tratamento CP e eutanasiado (eugenol 100 mg/L) para a avaliação parasitológica do muco da superfície do peixe,

seguinte procedimento descrito por Bush et al. (1997); Jeronimo et al. (2013). Tanto a constatação da presença dos parasitos quanto a sua quantificação, foi realizada por meio de observação em microscópio óptico (Leica DME objetiva 4x/0.10) com auxílio de câmara de Sedgewick-Rafter, de acordo com a metodologia descrita por Ibrahim e Ismail (2009).

2.6. Qualidade da água

Parâmetros de qualidade da água como salinidade, pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura foram medidos com sondas multiparâmetros YSI Model 63 e YSI Model 550A (Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, EUA). Para avaliação dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato) e alcalinidade, foi utilizado o kit colorimétrico da Alfakit (fotocolorímetro AT 10P Microprocessado, Brasil). Durante a fase em que foi feita a alimentação profilática, a salinidade média (\pm desvio padrão) foi de $1,06 \pm 0,19$ ppt, o pH de $7,56 \pm 0,42$, o OD de $7,7 \pm 0,28$ mg/L e a temperatura da água de $24,43 \pm 0,41$ °C. A amônia total foi de $0,10 \pm 0,16$ mg/L, o nitrito de $0,01 \pm 0,02$ mg/L e o nitrato de $0,41 \pm 0,61$ mg/L enquanto que a alcalinidade foi de $62,5 \pm 8,75$ mg CaCO₃/L.

Na fase de infestação por coabitação, a salinidade se manteve em $0,1 \pm 0,60$ ppt, o pH em $7,02 \pm 0,72$, o OD em $8,05 \pm 0,52$ mg/L e a temperatura da água em $20,67 \pm 1,39$ °C. A amônia total foi de $0,10 \pm 0,20$ mg/L, o nitrito de $0,00 \pm 0,00$ mg/L, o nitrato de $0,28 \pm 0,41$ mg/L e a alcalinidade se manteve em $47,45 \pm 12,13$ mg CaCO₃/L, esses parametros são ideias para a espécie de acordo com Baldisserotto e Silva,(2004).

2.7. Análise estatística

Previamente a aplicação da ANOVA (uma via), foram realizadas as análises de normalidade e homocedasticidade dos dados, seguido de pós-teste de Tukey para comparação múltipla e verificação de diferenças entre os tratamentos. Todas as análises foram feitas com nível de significância $p < 0,05$. Os dados foram apresentados como média e desvio padrão (média \pm DP) e calculados por meio do programa computacional Statistica® versão 7.0.

3. Resultados

Apenas no primeiro dia de experimento foi observado em parte das unidades experimentais que os peixes não consumiram prontamente todo alimento medicado fornecido. Não houve mortalidade atribuível à

alimentação com as dietas contendo as diferentes concentrações das substâncias testadas. Foi registrada a morte de um único peixe de uma unidade experimental do tratamento BIO200, embora provavelmente não associada ao uso do fitoterápico.

Durante a fase de infestação foi observada a morte de mais um peixe em uma unidade do tratamento TT4, ocorrida no terceiro dia de exposição, embora não possa ser associada à infestação pelo ictio, pois naquele momento ainda não havia sido observada a presença do *I. multifiliis* nos peixes.

Na avaliação parasitológica realizada após os 10 dias de infestação, o único parasito encontrado nos peixes foi o *I. multifiliis*, com taxa de prevalência de 100%, confirmando assim a presença do parasito nos juvenis de *R. branneri* após a fase de exposição por coabitação.

3.1. Efeito do químico e do fitoterápico no número de trofontes de *I. multifiliis*

A concentração utilizada tanto do químico quanto do fitoterápico alterou a intensidade da infestação por trofontes de *I. multifiliis*. Apesar disso, ao final do experimento foi registrada prevalência de 100% de *I. multifiliis* para todos os tratamentos. O grau de infestação por trofontes foi menor ($p < 0,05$) nos peixes tratados com ambas as concentrações do químico e naqueles que receberam a maior concentração do fitoterápico, não diferindo entre si (Figura 1).

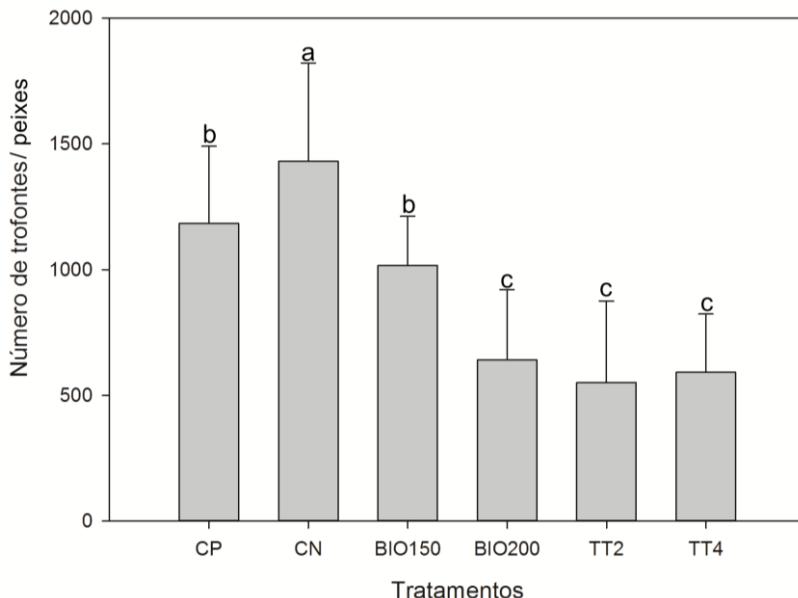


Figura1. Número (média \pm DP) de trofozoítos de *I. multifiliis* em juvenis de *Rhamdia branneri* (n=10) alimentados previamente com dieta contendo substâncias profiláticas após 10 dias de coabitação com peixes infestados com ictio. Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$). Tratamentos: CP: controle positivo; CN: controle negativo; BIO150: alimento contendo 150mg de Biomassa cítrica /g de ração; BIO200: alimento contendo 200mg de Biomassa cítrica /g de ração; TT2: alimento contendo 2mg de toltrazuril /g de ração; TT4: alimento contendo 4mg de toltrazuril /g de ração.

3.2. Efeito do químico e do fitoterápico no desempenho de juvenis de jundiá *R. branneri*

Houve aceitabilidade e consumo do alimento fornecido durante os 15 dias de experimentação, independente da concentração e da inclusão ou não das substâncias testadas. A sobrevivência foi semelhante entre os tratamentos e superior a 99% (Tabela 1).

Foi observada semelhança no desempenho zootécnico dos peixes submetidos aos distintos tratamentos, exceto pela discreta redução de desempenho dos peixes tratados com a maior concentração do químico (TT4) em relação ao controle negativo, com menores valores de TCE, CA, EA, GP e GPD (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Valores médios (\pm DP) do peso (g) e comprimento (cm) de juvenis de *Rhamdia branneri* alimentados com ração comercial contendo diferentes concentrações de toltrazuril (2 e 4 mg/g) ou biomassa cítrica (150 e 200 mg/g). Diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tratamentos	PI (g)	PF (g)	CI (cm)	CF (cm)	GC (cm)	Sobrev. %
CN	4,24 \pm 1,15	5,49 \pm 1,29	7,91 \pm 0,75	8,25 \pm 0,70	0,34 \pm 0,17	100
BIO150 mg/g	4,26 \pm 0,83	5,18 \pm 1,12	7,90 \pm 0,58	8,09 \pm 0,81	0,19 \pm 0,02	100
BIO200 mg/g	4,85 \pm 0,90	5,66 \pm 1,00	8,32 \pm 0,57	8,52 \pm 0,56	0,20 \pm 0,08	100
TT2 mg/g	4,46 \pm 0,98	5,48 \pm 1,17	8,01 \pm 0,66	8,27 \pm 0,69	0,26 \pm 0,14	100
TT4 mg/g	4,66 \pm 0,98	5,10 \pm 1,26	8,21 \pm 0,63	8,08 \pm 0,95	-0,13 \pm 0,62	99,7

Tratamentos: CN: controle negativo; BIO150: alimento contendo 150 mg de Biomassa cítrica /g de ração; BIO200: alimento contendo 200 mg de Biomassa cítrica/g de ração; TT2: alimento contendo 2 mg de toltrazuril /g de ração; TT4: alimento contendo 4 mg de toltrazuril /g de ração. PI: peso inicial; PF: peso final; CI: comprimento inicial; CF: comprimento final; GC: ganho em comprimento; Sobrev.: taxa de sobrevivência.

Tabela 2. Efeito do desempenho de juvenis de *Rhamdia branneri* alimentados por 15 dias com dieta contendo diferentes concentrações de toltrazuril e biomassa cítrica (n =10). Diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tratamentos	TCE(%)	FC	CA	EA(%)	GP(g)	GPD(g)	CV(%)
CN	8,38 \pm 0,42 ^a	0,67 \pm 0,03 ^a	2,31 \pm 0,03 ^a	0,43 \pm 0,01 ^a	1,26 \pm 0,06 ^a	0,08 \pm 0,00 ^a	0,002 \pm 0,000 ^a
BIO150 mg/g	6,18 \pm 1,59 ^{bn}	0,64 \pm 0,00 ^a	2,46 \pm 0,14 ^{bn}	0,41 \pm 0,02 ^{bn}	0,93 \pm 0,24 ^{bn}	0,06 \pm 0,02 ^{bn}	0,002 \pm 0,000 ^a
BIO200 mg/g	5,44 \pm 0,77 ^{bn}	0,66 \pm 0,04 ^a	2,57 \pm 0,05 ^{bn}	0,39 \pm 0,01 ^{bn}	0,82 \pm 0,12 ^{bn}	0,05 \pm 0,01 ^{bn}	0,002 \pm 0,000 ^a
TT2 mg/g	6,81 \pm 0,37 ^{bn}	0,66 \pm 0,02 ^a	2,44 \pm 0,01 ^{bn}	0,41 \pm 0,00 ^{bn}	1,02 \pm 0,06 ^{bn}	0,07 \pm 0,00 ^{bn}	0,002 \pm 0,000 ^a
TT4 mg/g	2,97 \pm 3,81 ^{cb}	0,63 \pm 0,08 ^a	2,77 \pm 0,29 ^{cb}	0,36 \pm 0,04 ^{cb}	0,45 \pm 0,57 ^{cb}	0,03 \pm 0,04 ^{cb}	0,002 \pm 0,000 ^a

Tratamentos: CN: controle negativo; BIO150: alimento contendo 150 mg de biomassa cítrica /g de ração; BIO200: alimento contendo 200 mg de biomassa cítrica /g de ração ; TT2: alimento contendo 2 mg de toltrazuril /g de ração; TT4: alimento contendo 4 mg de toltrazuril /g de ração. TCE: taxa de crescimento específico; FC: fator de condição; CA: conversão alimentar; EA: eficiência alimentar; GP: ganho em peso; GPD: ganho de peso diário; CV: coeficiente de variação do peso.

4. Discussão

Recentemente, o setor produtivo tem dado atenção considerável para a utilização de produtos à base de plantas e produtos químicos não-cancerígenos e amigáveis ao meio ambiente para controlar a infestação pelo parasito *I. multifiliis* em peixes (Jørgensen, 2017; Zhang et al., 2013). O toltrazuril e a biomassa cítrica demonstraram serem substâncias profiláticas eficazes na redução de trofontes de *I. multifiliis* quando inseridos na alimentação, sendo que os juvenis de *R. branneri* tiveram redução do grau de infestação de até 50% quando previamente tratados com essas substâncias. Resultados similares com o uso de toltrazuril foram observados por Jaafar e Buchmann (2011), onde juvenis de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (65 g) receberam alimentação contendo 2,5 mg toltrazuril/g, administrada durante três dias, reduzindo assim a infestação obtida após a exposição a trofontes.

A biomassa cítrica (BioGermex®) é um produto orgânico que atua como bactericida e fungicida natural e se mostrou com perspectivas de uso no controle do protozoário ciliado na piscicultura. Apesar do pioneirismo deste estudo no uso do biomassa cítrica incluído na ração de peixes para o tratamento profilático à infestação pelo parasito ciliado de *I. multifiliis*, há registro de estudo sobre avaliação da sobrevivência de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com ração contendo biomassa cítrica (BioGermex®), tendo sido observado que essa inclusão não afetou a taxa de sobrevivência dos peixes (Amaral et al, 2011). Adicionalmente, foi estimada a dose letal do produto em 24 e 96 h de exposição para carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) (3,8g) (53,73 mL L⁻¹), (Garcia et al., 2011) e tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (41,91 mL L⁻¹) (Garcia et al., 2010) e No presente estudo, foi observada redução do número de trofontes nos peixes quanto utilizada a maior concentração do fitoterápico (BIO200). Outros estudos com a utilização de fitoterápicos têm se mostrado igualmente eficientes na profilaxia, promovendo redução no grau de infestação por trofontes de *I. multifiliis*, como por exemplo no estudo com juvenis de carpa capim (*C. idella*) (29,2g) tratadas com (16,8 e 16 mg/L) imunoestimulante a base de extratos de plantas (*Astragalus membranaceus*, *Lonicera japonica*, *Allium sativum*, *Crataegus pinnatifida*, *Aloe barbadensis*, *Atractylodes macrocephala*, *Isatidis radix*, *Angelica sinensis*, *D. morifolium* e *Morus alba*) (Lin et al., 2016).

No presente estudo, o tratamento com o fitoterápico não foi 100% eficaz na proteção contra a infestação por *I. multifiliis*, porém, foi capaz de reduzir o grau de infestação em juvenis de *R. branneri*. Resultados semelhantes foram observados com outros fitoterápicos utilizados na

profilaxia ao ictio, tais como em *Ictalurus punctatus* tratados com (20 mg/L) extrato de *Galla chinensis* (Zhang et al., 2013) e em *Carassius auratus* tratados com 200 mg/L de extratos vegetais *Mucuna pruriens* e *Carica papaya*, foi 92 e 89% efetivo (Ekanem et al., 2004), *Capsicum frutescens* (vss/vt—vss 1:32 e 1:64) tendo reduzido 70% (Ling et al., 2012), 2,5 mg/L de extratos de *Psoralea corylifolia* (Song et al., 2015), 15 mg/L de extratos *Cynanchum paniculatum* reduziu 70,2% (JI-Hong et al., 2017). Em todos esses trabalhos foi observado efeito positivo na redução da infestação, porém, nunca foi obtida a completa proteção dos peixes contra a infestação por *I. multifiliis*.

O tratamento parasitário de peixes com substâncias profiláticas e curativas deve ser eficiente no combate ao parasita e ter em conta benefícios produtivos, sem comprometer o desempenho zootécnico dos animais e nem contaminar o meio ambiente. No presente trabalho, ambas as substâncias testadas foram eficientes na redução da infestação por trofontes sem alterar o desempenho zootécnico dos jundiás, exceto pelo tratamento com a maior concentração de toltrazuril (TT4), que reduziu o ganho de peso e afetou outros indicadores zootécnicos avaliados. Resultado semelhante foi observado em juvenis de truta arco-íris (*O. mykiss*) alimentados com a mesma substância química (Jaafar e Buchmann, 2011), onde os peixes tratados com a maior concentração testada (5 mg de toltrazuril/g ração) reduziram o consumo de alimento. Esses autores sugerem que a molécula de toltrazuril naquela concentração pode ter sido detectada pelas células olfativas e/ou sensoriais do peixe. Outros estudos profiláticos foram realizados para reduzir o grau de infestação do icito em jundiá, tais como a suplementação da dieta com ácido ascórbico monofosfatado (Borba et al., 2007), resultando na obtenção de semelhante desempenho zootécnico dos peixes nas diversas concentrações testadas, porém, sem efeito no grau de infestação pelo *I. multifiliis*.

O toltrazuril é uma substância licenciada para tratar infecções protozoárias em bovinos (Veronesi et al., 2011), coelhos (Çam et al., 2008), caninos (Altreuther et al., 2011), ovinos (Le Sueur et al., 2009), suínos (Driesen et al., 1995) e aves (Laczay et al., 1995; Krautwald-Junghanns et al., 2009; Mathis et al., 2004). No entanto, não há licenciamento específico para uso em peixes. Segundo normativa da comunidade europeia, os medicamentos antiparasitários podem ser usados para peixes desde que seja observada a regra definida na Diretiva 2004/28/CE (artigo 11, b. ii), que autoriza a utilização de uma droga licenciada para outro animal hospedeiro quando nenhum outro medicamento estiver disponível para o tratamento de uma determinada

doença (Jaafar e Buchmann, 2011). Considerando essa normativa da comunidade européia, o toltrazuril tem possibilidade de uso em peixes.

Os produtos testados neste estudo foram eficientes na redução do grau de infestação por trofontes de *I. multifiliis* em juvenis de jundiá, apesar de não impedir completamente a infestação dos peixes. Considerando os resultados promissores obtidos, novos estudos com essas substâncias podem ser exitosos na definição de doses mais eficazes.

5. Conclusão

A incorporação de substância química ou fitoterápica na dieta de juvenis de jundiá *R. branneri* foi eficiente na profilaxia contra o parasita *I. multifiliis*, tendo reduzido a infestação dos peixes tratados em até 50%. O uso de dieta contendo 2 mg toltrazuril/g de ração ou 200 mg de BioGermex®/g de ração e ofertada durante 15 dias foi eficaz na redução do número de trofontes de *I. multifiliis* em *R. branneri*, sem causar prejuízo no desempenho zootécnico dos peixes.

Agradecimentos:

Este estudo foi financiado e apoiado pelo Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD / UFSC) e Instituto Superior Politecnico de Gaza- Chókwè-Moçambique através do Projecto NICHE/MOZ/150. À Dr^a. Josiane Ribolli pela comprovação do material biológico através do teste de DNA barcoding, à Dr^a Natalia Marchiori (CEDAP/EPAGRI) e Dr. Giuliano Maia pelo auxílio na definição das metodologias de trabalho e apoio na sua realização, e ainda, ao Sr. Humberto Bitencourt pelo fornecimento de BioGermex®.

Referências

- Abdel-Hafez, G., Lahnsteiner, F., Mansour, N., Licek, E., 2014a. Pathophysiology of *ichthyophthirius multifiliis* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and chub (*leuciscus cephalus*). J. Comp. Pathol. 151, 394–399. doi:10.1016/j.jcpa.2014.08.003
- Abdel-Hafez, G., Lahnsteiner, F., Mansour, N., 2014b. Possibilities to control *Ichthyophthirius multifiliis* infestation with medicated feed in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and chub (*Leuciscus cephalus*). Parasitol. Res. 113, 1119–1126. doi:10.1007/s00436-013-3749-9

- Amaral, J. H., Garcia, S., Liebl, F., Rocha, D.J. 2011, Efeito do fitoterápico Biogermex ® incorporado à ração, na sobrevivência de larvas de jundiá *Rhamdia quelen*. http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao_tecnico_cientifica/DOC_23166.pdf
- Ahmed, I., 2010. Response to the ration levels on growth, body composition, energy, and protein maintenance requirement of the Indian catfish (*Heteropneustes fossilis*-Bloch 1974). *Fish Physiol. Biochem.* 36, 1133–1143. doi:10.1007/s10695-010-9391-x
- Altreuther, G., Gasda, N., Schroeder, I., Joachim, A., Settje, T., Schimmel, A., Hutchens, D., Krieger, K.J., 2011. Efficacy of emodepside plus toltrazuril suspension (Procox® oral suspension for dogs) against prepatent and patent infection with *Isospora canis* and *Isospora ohioensis*-complex in dogs. *Parasitol. Res.* 109, 9–20. doi:10.1007/s00436-011-2398-0
- Baldisserotto, B., Silva, L.V.F., 2004. Qualidade da água. In: Baldisserotto, B., Radunz Neto, J. (Eds.), Criação de jundiá vol. 1. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, pp. 73–92
- Borba, M.R. Fracalossi, D., Almeida, F., 2007. Efeito da suplementação de vitamina C na dieta sobre a susceptibilidade de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen*, ao *Ichthyophthirius multifiliis*. *Acta Sci. Anim. Sci.* 29, 93–99.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. *J. Parasitol.* 83, 575. doi:10.2307/3284227
- Çam, Y., Atasever, A., Eraslan, G., Kibar, M., Atalay, Ö., Beyaz, L., İnci, A., Liman, B.C., 2008. *Eimeria stiedae*: Experimental infection in rabbits and the effect of treatment with toltrazuril and ivermectin. *Exp. Parasitol.* 119, 164–172. doi:10.1016/j.exppara.2008.01.005
- Laczay, P., Voros, G., Semjén, G., 1995. Comparative Studies on the efficacy of Suphachlorpyrazine and Toltrazuril for the

Treatment of Caecal Coccidiosis in Chickens. *Int. J. Parasitol.* Vol. 25. No. 6, pp. 753-756. doi:10.1016/S0020-7519(98)00211-2

- Diaferia, M., Veronesi, F., Morganti, G., Nisoli, L., Fioretti, D.P., 2013. Efficacy of Toltrazuril 5 % Suspension (Baycox®, Bayer) and Diclazuril (Vecoxan®, Janssen-Cilag) in the Control of *Eimeria* spp. in Lambs. *Parasitol Res. P.* 163–168. doi:10.1007/s00436-013-3440-1
- Dickerson, H.W., Findly, R.C., 2014. Immunity to *Ichthyophthirius* infections in fish: A synopsis. *Dev. Comp. Immunol.* 43, 290–299. doi:10.1016/j.dci.2013.06.004
- Driesen, S., Fahy, V., Carland, P., 1995. The use of toltrazuril for the prevention of coccidiosis in piglets before weaning. *Aust. Vet. J.* 72, 139–141. doi:10.1111/j.1751-0813.1995.tb15034.x
- Ekanem, A.P., Obiekezie, A., Kloas, W., Knopf, K., 2004. Effects of crude extracts of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) and *Carica papaya* (Caricaceae) against the protozoan fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Parasitol. Res.* 92, 361–366. doi:10.1007/s00436-003-1038-8
- Epe, C., Wirtherle, N., Welz, C., Beening, J., Radeloff, I., Hellmann, K., Schnieder, T., Krieger, K., 2005. Efficacy of toltrazuril as a metaphylactic and therapeutic treatment of coccidiosis in first-year grazing calves. 127–133. doi:10.1007/s00436-005-1456-x
- Ewing, M.S., Kocan, K.M., 1992. Invasion and development strategies of *Ichthyophthirius multifiliis*, a parasitic ciliate of fish. *Parasitol. Today.* vol. 8, no. 6, P,204–208. doi:10.1016/0169-4758(92)90265-4
- Garcia, S., Liebl, F., Camargo, M., Bernardes J., Júnior, A.J., 2011. Concentração letal em 24 horas (CI50 24 h) do Biogermex® para alevinos de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idellus*); EPAGRI, Campo Experimental de Piscicultura de Camboriú–SC; http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao_tecnico_cientifica/DOC_26839.pdf

- Garcia, S., Júnior, H.A., Mello, G.L., Silva, F.M., Serafini, R.L., Liebl, F., Joaquim, J., Júnior, B., 2010. Avaliação da Concentração Letal em 96 horas (CL 50 96 h) para o Biogermex® em alevinos de Tilápia GIFT (*Oreochromis niloticus*) (419. http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao_tecnico_cientifica/DOC_6951.pdf)
- Garcia, L.O., Becker, A.G., Bertuzzi, T., Cunha, M.A., Kochhann, D., Finamor, I.A., Riffel, A.P.K., Llesuy, S., Pavanato, M.A., Baldisserotto, B., 2011. Oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles infected with *Ichthyophthirius multifiliis* and maintained at different levels of water pH. *Vet. Parasitol.* 178, 15–21. doi:10.1016/j.vetpar.2010.12.039
- Harms, C.A., 1996. Treatments for parasitic diseases of aquarium and ornamental fish. *Semin. Avian Exot. Pet Med.* 5, 54–63. doi:10.1016/S1055-937X(96)80018-1
- Heinecke, R.D., Buchmann, K., 2009. Control of *Ichthyophthirius multifiliis* using a combination of water filtration and sodium percarbonate: Dose-response studies. *Aquaculture* 288, 32–35. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.11.017
- Ibrahim, T.B., Ismail, M.M., 2009. Protection of Goldfish (*Carassius auratus*) Against *Ichthyophthirius multifiliis* by Immunization with Live Theronts, Trophonts and Sonicated Trophonts 3, 329–334.
- Jaafar, R.M., Buchmann, K., 2011. Toltrazuril (Baycoxreg; vet.) in feed can reduce *Ichthyophthirius multifiliis* invasion of rainbow trout (*Salmonidae*). *Acta Ichthyol. Piscat.* 41, 63–66. doi:10.3750/AIP2011.41.1.09
- Jeronimo, G.T., Ventura, A.S., Pádua, S.B. de, Satake, F., Ishikawa, M.M., Martins, M.L., 2013. Parasitofauna de cachara cultivado em tanque-rede no rio Paraguai. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 48, 1163–1166. doi:10.1590/S0100-204X2013000800054
- Ji-hong, W., Yan-li, W., Yu-Hua, L., Ji-Yuan, Z., Ze-Hong, L., 2017. Activity of two extracts of *Cynanchum paniculatum* against

Ichthyophthirius multifiliis theronts and tomonts. Parasitology 144, 179–185. doi:10.1017/S003118201600144X

- Jorgensen, E.H., Jobling, M., 1993. The effects of exercise on growth, food utilisation and osmoregulatory capacity of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture 116, 233–246. doi:10.1016/0044-8486(93)90011-M
- Jørgensen, L. Von, G., 2017. The fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis* – Host immunology, vaccines and novel treatments. Fish Shellfish Immunol. 67, 586–595. doi:10.1016/j.fsi.2017.06.044
- Kim, M.S., Lim, J.H., Hwang, Y.H., Park, B.K., Song, I.B., Yun, H.I., 2010. Plasma disposition of toltrazuril and its metabolites, toltrazuril sulfoxide and toltrazuril sulfone, in rabbits after oral administration. Vet. Parasitol. 169, 51–56. doi:10.1016/j.vetpar.2009.12.011
- Krautwald-Junghanns, M.-E., Zebisch, R., Schmidt, V., 2009. Relevance and treatment of coccidiosis in domestic pigeons (*Columba livia* forma domestica) with particular emphasis on toltrazuril. J. Avian Med. Surg. 23, 1–5. doi:10.1647/2007-049R.1
- Le Sueur, C., Mage, C., Mundt, H.C., 2009. Efficacy of toltrazuril (Baycox® 5% suspension) in natural infections with pathogenic *Eimeria* spp. in housed lambs. Parasitol. Res. 104, 1157–1162. doi:10.1007/s00436-008-1305-9
- Lim, J.-H., Kim, M.-S., Hwang, Y.-H., Song, I.-B., Park, B.-K., Yun, H.-I., 2010. Pharmacokinetics of toltrazuril and its metabolites, toltrazuril sulfoxide and toltrazuril sulfone, after a single oral administration to pigs. J. Vet. Med. Sci. 72, 1085–7. doi:10.1016/j.vetpar.2009.12.011
- Lin, D.J., Hua, Y.N., Zhang, Q.Z., Xu, D.H., Fu, Y.W., Liu, Y.M., Zhou, S.Y., 2016. Evaluation of medicated feeds with antiparasitical and immune-enhanced Chinese herbal medicines against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Parasitol. Res. 115, 2473–2483.

doi:10.1007/s00436-016-5000-y

- Ling, F., Wang, J.G., Lu, C., Wang, G.X., Lui, Y.H., Gong, X.N., 2012. Effects of aqueous extract of *Capsicum frutescens* (Solanaceae) against the fish ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Parasitol. Res.* 111, 841–848. doi:10.1007/s00436-012-2907-9
- Maki, J.L., Brown, C.C., Dickerson, H.W., 2001. Occurrence of *ichthyophthirius multifiliis* within the peritoneal cavities of infected channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Dis. Aquat. Organ.* 44, 41–45. doi:10.3354/dao044041
- Mathis, G.F., Froyman, R., Kennedy, T., 2004. Coccidiosis control by administering toltrazuril in the drinking water for a 2-day period. *Vet. Parasitol.* 121, 1–9. doi:10.1016/j.vetpar.2004.02.020
- Matthews, R.A., 2005. *Ichthyophthirius multifiliis* fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. *Adv. Parasitol.* 59, 159–241. doi:10.1016/S0065-308X(05)59003-1
- Picón-Camacho, S.M., Marcos-Lopez, M., Bron, J.E., Shinn, A.P., 2012. An assessment of the use of drug and non-drug interventions in the treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876, a protozoan parasite of freshwater fish. *Parasitology*. doi:10.1017/S0031182011001867
- Rowland, S.J., Mifsud, C., Nixon, M., Read, P., Landos, M., 2008. Use of formalin and copper to control ichthyophthiriosis in the Australian freshwater fish silver perch (*Bidyanus bidyanus Mitchell*). *Aquac. Res.* 40, 44–54. doi:10.1111/j.1365-2109.2008.02061.x
- Salhi, M., Bessonart, M., Chediak, G., Bellagamba, M., Carnevia, D., 2004. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. *Aquaculture* 231, 435–444. doi:10.1016/j.aquaculture.2003.08.006
- Scholz, T., 1999. Parasites in cultures and feral fish. *Vet. Parasitol.* 84, 317–335. doi:10.1016/S0304-4017(99)00039-4

- Shinn, A.P., Picon-Camacho, S.M., Bawden, R., Taylor, N.G.H., 2009. Mechanical control of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 (Ciliophora) in a rainbow trout hatchery. *Aquac. Eng.* 41, 152–157. doi:10.1016/j.aquaeng.2009.07.002
- Song, K., Ling, F., Huang, A., Dong, W., Liu, G., Jiang, C., Zhang, Q., Wang, G., 2015. In vitro and in vivo assessment of the effect of antiprotozoal compounds isolated from *Psoralea corylifolia* against *Ichthyophthirius multifiliis* in fish. *Int. J. Parasitol. Drugs Resist.* 5, 58–64. doi:10.1016/j.ijpddr.2015.04.001
- Tancredo, K.R., Gonçalves, E.L.T., Brum, A., Acchile, M., Hashimoto, G.S.O., Pereira, S.A., Martins, M.L., 2015. Hemato-immunological and biochemical parameters of silver catfish *Rhamdia quelen* immunized with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. *Fish Shellfish Immunol.* 45, 689–694. doi:10.1016/j.fsi.2015.05.024
- Verdal, H., Mekki, W., Lind, C.E., Vandeputte, M., Chatain, B., Benzie, J.A.H., 2017. Measuring individual feed efficiency and its correlations with performance traits in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 468, 489–495. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.11.015
- Veronesi, F., Diaferia, M., Viola, O., Fioretti, D.P., 2011. Long-term effect of toltrazuril on growth performances of dairy heifers and beef calves exposed to natural *Eimeria zuernii* and *Eimeria bovis* infections. *Vet. J.* 190, 296–299. doi:10.1016/j.tvjl.2010.10.009
- Wei, J.Z., Li, H., Yu, H., 2013. Ichthyophthiriasis: Emphases on the epizootiology. *Lett. Appl. Microbiol.* 57, 91–101. doi:10.1111/lam.12079
- Weingartner, M., Fracalossi, M.D., Zaniboni-Filho, E., Nuner A. P. 2012. Desenvolvimento de tecnologia de criação. In: Zaniboni-Filho, Evoy E Nuner Alex Pires de Oliveira, 2012. Reservatório de Machadinho: peixes, pesca e tecnologias de criação. Editora UFSC, Florianópolis. 256p. ISBN 978-85-328-0594-2

- Xu, D.H., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., 2008. Protective immunity of Nile tilapia against *Ichthyophthirius multifiliis* post-immunization with live theronts and sonicated trophonts. *Fish Shellfish Immunol.* 25, 124–127. doi:10.1016/j.fsi.2008.03.012
- Xu, D.H., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., 2007. Evaluation of a cohabitation challenge model in immunization trials for channel catfish *Ictalurus punctatus* against *Ichthyophthirius multifiliis*. *Dis. Aquat. Organ.* 74, 49–55. doi:10.3354/dao074049
- Zhang, Q., Xu, D.H., Klesius, P.H., 2013. Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Galla chinensis* against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Vet. Parasitol.* 198, 45–53. doi:10.1016/j.vetpar.2013.08.019

CONCLUSÃO GERAL

Em banho, o toltrazuril tem um efeito deletério contra o parasito *I. multifiliis*, pois as concentrações de 500 e 750 mg/L causaram redução no número de trofontes de 91 e 94%, respectivamente. Apesar disso, o tratamento causa elevada mortalidade dos peixes e não pode ser recomendado para o tratamento de juvenis de jundiá *R. quelen* infestados por *I. multifiliis*. É recomendada a realização de testes com produtos alternativos na forma de banhos de imersão ou suplementação na dieta para o combate ao ictio em jundiá.

A incorporação de substância química ou fitoterápica na dieta de juvenis de jundiá foi eficiente na profilaxia contra o parasito *I. multifiliis*, tendo reduzido a infestação dos peixes tratados. O uso de dieta contendo 2 mg toltrazuril/g de ração ou 200 mg de BioGermex®/g de ração e ofertada durante 15 dias foi eficaz na redução do número de trofontes de *I. multifiliis* em juvenis de *R. branneri*, sem causar prejuízo no desempenho zootécnico dos peixes.

Os produtos testados neste estudo foram eficientes na redução do número de trofontes de *I. multifiliis* em juvenis de jundiá *R. quelen* e *R. branneri*, apesar de não impedir completamente a infestação dos peixes. Considerando os resultados promissores obtidos, novos estudos com essas substâncias podem ser exitosos na definição de doses mais eficazes.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

AIUHA, L.; BUCHMANN, K. Temperature and salinity dependent development of a Nordic strain of *Ichthyophthirius multifiliis* from rainbow trout. *Journal of Applied Ichthyology* 17:273–276, 2001.

BALDISSEROTO, B. Biologia do jundiá. In: BALDISSEROTO, B.; RADUNZ NETO, J. (Eds.) Criação de jundiá. Santa Maria. Editora UFSM, 2004.

BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; RODRIGUES, L. et al. Hematological and biochemical characteristics of male jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard pimelodidae): change after acute stress. *Aquaculture Research*.V.34, 2003.

BOMBARDELLI, R.A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R. et al. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). *Revista Brasileira de Zootecnia*. V.35, n.4, 2006.

BUCHMANN, K. Impact and control of protozoan parasites in maricultured fishes. *Parasitology* 142, P168–177. doi:10.1017/S003118201300005X, 2015.

BUCHMANN, K.; SIGH, J.; NIELSEN, C. V.; DALGAARD, M.. Host responses against the fish parasitizing ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. *Vet. Parasitol.* 100, 105–116. doi:10.1016/S0304-4017(01)00487-3, 2001.

CASSIDY-HANLEY, D.M.; CORDONNIER-PRATT, M.M.; PRATT, L.H.; DEVINE, C.; MOZAMMAL H.M.; DICKERSON, H.W.; CLARK, T.G. Transcriptional profiling of stage specific gene expression in the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 178, 29–39. doi:10.1016/j.molbiopara,2011.04.004, 2011.

DICKERSON, H.; CLARK, T.,. *Ichthyophthirius multifiliis*: A model of cutaneous infection and immunity in fishes. *Immunol. Rev.* 166, 377–384. doi:10.1111/j.1600-065X.1998.tb01277.x, 1998.

DICKERSON, H.W. Immunity to *Ichthyophthirius* infections in fish. A synopsis. doi:10.1016/j.dci.2013.06.004, 2015.

EPAGRI/CEDAP. Síntese da Produção da Piscicultura Catarinense. Texto desenvolvido em 2013 pelos técnicos da Epagri/ Cedap. p-3. Florianópolis , 2013

EWING, M.S.; KOCAN, K.M. Invasion and development strategies of *Ichthyophthirius multifiliis*, a parasitic ciliate of fish. Parasitol. Today 8, 204–208. doi:10.1016/0169-4758(92)90265-4, 1992.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture, 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp. ISBN 978-92-5-109185-2, 2016.

FAO. Food and agriculture Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012.

FRACALOSSO, D.M.; MEYER, G.; SANTAMARIA, F.M.; WEINGARTNER, M., ZANIBONI-FILHO, E. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen* , e do dourado, *Salminus brasiliensis* , em viveiros de terra na região sul do Brasil. Acta Sci. Anim. Sci. 26, 345–352. doi:10.4025/actascianimsci.v26i3.1806, 2008.

FRANCIS-FLOYD, R.; REED, P. *Ichthyophthirius Multifiliis* (White Spot) Infections in Fish. IFAS Ext. Univserity Florida CIR20, 1–5, 2009.

FUJIMOTO, R.Y.; GABBAY, M.I.; ANJOS, E.C.S.; CARRASCHI, S.P.; CRUZ, C.; Toxicidade e risco ambiental da oxitetraciclina e efeito em leucócitos de mato grosso (*Hyphessobrycon eques*), J. Brazilian Soc. Ecotoxicol. 7, 11–15. doi:10.5132/jbse.2012.02.002, 2012.

FUKUSHIMA, et al. Triploidy in the hematology of jundia juveniles (Siluriformes: *Heptapteridae*). Braz. J. Biol. Vol. 72, no. 1, p. 147-151, 2012.

GARCIA S.; LIEBL, F.; CAMARGO, M.; BERNARDES, J.J.; HILTON A.J. Concentração letal em 24 horas (CI50 24 h) do Biogermex® para alevinos de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idellu*). EPAGRI, Campo Experimental de Piscicultura de Camboriú–SC;

http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao_tecnico_cientifica/DOC_26_839.pdf (Acessado em 10/04/2017), 2011.

GARCIA, L.; BECKER, A.G.; COPATTI, C.E.; BALDISSEROTTO, B.; NETO, J.R. Salt in the food and water as a supportive therapy for *Ichthyophthirius multifiliis* infestation on silver catfish, *Rhamdia quelen*, fingerlings. J. World Aquac. Soc. 38, 1–11. doi:10.1111/j.1749-7345.2006.00068.x, 2007.

GARAVELLO, J.C.; SHIBATTA, O.A. Reappraisal of *Rhamdia branneri* Haseman, 1911 and *R. voulezi* Haseman, 1911 (Siluriformes: *Heptapteridae*) from the rio Iguaçu with notes on their morphometry and karyotype. Neotrop.Ichthyol. 14. doi:10.1590/1982-0224-20140111, 2016.

GIL, B.L.J.; KREUTZ, L.C.; QUEVEDO, R.M.; FIOREZE, I.; CERICATO, L.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; BALDISSERA, R.K.; BRUSCHI, A.; RITTER, F. Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: Cage type, stocking density and stress response to confinement. Aquaculture 232, 383–394. doi:10.1016/S0044-8486(03)00545-3, 2004.

GOMES, L.C.; GOLOMBIESKI J.I.; ADRIANA, R.G.C.H.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). Ciência Rural, Santa Maria, v. 30, n. 1, ISSN 0103-8478 179–185. doi:10.1590/S0103-84782000000100029, 2000.

GOMES L.C.; BALDISSEROTTO B; SENHORINI J.A. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of the matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds, 2000.

HEBERT, P.D.N.; RATNASINGHAM, S.; WAARD, J. Barcoding animal life : cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. Proc. R. Soc. Lond. B 270, S96–S99. doi:10.1098/rsbl.2003.0025, 2003.

HU, J.; SHI, X.; CHEN, J.; MAO, X.; ZHU, L.; YU, L.; SHI, J. Alkaloids from *Toddalia asiatica* and their cytotoxic, antimicrobial and antifungal activities. Food Chem. 148, 437–444. doi:10.1016/j.foodchem.2012.12.058, 2014.

HUERGO, G.M.; ZANIBONI-FILHO.E. Triploidy Induction in Jundiá, *Rhamdia quelen*, Through Hydrostatic Pressure Shock. Journal Of Applied Aquaculture, v. 18, n.4. p.45-57, Informa UK Limited.http://dx.doi.org/10.1300/j028v18n04_04, 2006.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). Produção da Pecuária Municipal / IBGE. Rio de Janeiro, v. 44, p.1-53, 2016 ISSN 0101-4234, 2017, 2017.

JAAFAR, R.M.; BUCHMANN, K. Toltrazuril (Baycoxreg; vet.) in feed can reduce *Ichthyophthirius multifiliis* invasion of rainbow trout (Salmonidae).Acta Ichthyol.Piscat. 41, 63–66. doi:10.3750/AIP2011.41.1.09, 2011.

JONSSON, M.; FICK, J.; KLAMINDER, J.; BRODIN, T. Antihistamines and aquatic insects: Bioconcentration and impacts on behavior in damselfly larvae (*Zygoptera*). Science of the Total Environment, 472: 108-111, 2014.

KIM, M.S.; LIM, J.H.; HWANG, Y.H.; PARK, B.K.; SONG, I.B.; YUN, H.I. Plasma disposition of toltrazuril and its metabolites, toltrazuril sulfoxide and toltrazuril sulfone, in rabbits after oral administration. Vet. Parasitol. 169, 51–56. doi:10.1016/j.vetpar.2009.12.011, 2010.

LING, F.; LU, C.; TU, X.; YI, Y.; HUANG, A.; ZHANG, Q.; WANG, G. Antiprotozoal screening of traditional medicinal plants: Evaluation of crude extract of *Psoralea corylifolia* against *Ichthyophthirius multifiliis* in goldfish. Parasitol.Res. 112, 2331–2340.doi:10.1007/s00436-013-3397-0, 2013.

LIU, Y.M.; ZHANG, Q.Z.; XU, D.H.; FU, Y.W.; LIN, D.J.; ZHOU, S.Y.; LI, J.P. Antiparasitic efficacy of *curcumin* from *Curcuma longa* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp. Vet. Parasitol. 236, 128–136. doi:10.1016/j.vetpar.2017.02.011, 2017.

MATTHEWS, R.A. *Ichthyophthirius multifiliis* fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. Adv. Parasitol. 59, 159–241. doi:10.1016/S0065-308X(05)59003-1, 2005.

MEURER, S.; ZANIBONI-FILHO, E. Hábito alimentar do jundiá *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae), na região do alto rio Uruguai. In: XII ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, São Paulo, SP, 1997. Anais. São Paulo: SBI, 1997.

MEYER, G.; FRACALOSSO, D.M. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. *Aquaculture* 240, 331–343. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.01.034, 2004.

MOLNÁR, K.; OSTOROS, G. Efficacy of some anticoccidial drugs for treating coccidial enteritis of the common carp caused by *Goussia carpelli* (Apicomplexa: Eimeriidae). *Acta Vet. Hung.* 55, 67–76. doi:10.1556/AVet.55.2007.1.7, 2007.

NÉMETH, S.; HORVÁTH, Z.; FELFÖLDI, Z.; BELICZKY, G.; DEMETER, K. The use of permitted ectoparasite disinfection methods on young pike-perch (*Sander lucioperca*) after transition from overwintering lake to RAS. . *AAFL Bioflux* 6, 1–11, 2013.

NEPEAQUI. *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. Volume 2 Produção e Reprodução de Organismos Aquáticos.* ISBN. 978-85-7993-272-4, 2015.

PAVANELLI G.C.; EIRAS J.C.; TAKEMOTO R.M. *Parasitoses. Doenças de peixe: profilaxia, diagnóstico e tratamento.* 3º edição. Maringá. p. 1 – 132, 2008.

PERDICES, A.; BERMINGHAM, E.; MONTILLA, A.; DOADRIO, I. Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei: Pimelodidae) in Central America. *Mol. Phylogenet. Evol.* 25, 172–189. doi:10.1016/S1055-7903(02)00224-5, 2002.

PICÓN-CAMACHO, S.M.; LECLERCQ, E.; BRON, J.E.; SHINN, A.P. The potential utility of the leopard pleco (*Glyptoperichthys gibbiceps*) as a biological control of the ciliate protozoan *Ichthyophthirius multifiliis*. *Pest Manag. Sci.* 68, 557–563. doi:10.1002/ps.2293, 2012b.

PICÓN-CAMACHO, S.M.; MARCOS-LOPEZ, M.; BRON, J.E.; SHINN, A.P. An assessment of the use of drug and non-drug interventions in the treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet,

1876, a protozoan parasite of freshwater fish. Parasitology. doi:10.1017/S0031182011001867, 2012.

PICON-CAMACHO, S.M.. Developing strategies for the control of *Ichthyophthirius multifiliis* fouquet , 1876 (ciliophora), 2010.

PIAIA, R.; BALDISSEROTTO, B. Densidade de estocagem e crescimento de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824). Ciência Rural, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 509-513. ISSN 0103-8478, 2000.

RIBOLLI, J.; SCARANTO, B.M.; SHIBATTA, O.A.; BOMBARDELLI, R.A.; ZANIBONI-FILHO, E. DNA barcoding confirms the occurrence of *Rhamdia branneri* and *Rhamdia voulezi* (Siluriformes: Heptapteridae) in the Iguaçu River Basin. Neotrop. Ichthyol. 15. doi:10.1590/1982-0224-20160147, 2017.

SANTOS, EURICO. Peixes da água doce. Coleção zoologia Brasileira volume 2. Italiana Editora Limitada, 1981.

SILFVERGRIP, A.M.C. A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Telostei, Pimelodidae), 157 f. Tese (Tese de Doutorado), 1996.

SHINN, A.P.; PICON-CAMACHO, S.M.; BAWDEN, R.; TAYLOR, N.G.H. Mechanical control of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 (Ciliophora) in a rainbow trout hatchery. Aquac. Eng. 41, 152–157. doi:10.1016/j.aquaeng.2009.07.002, 2009.

SCHMAHL, G.; TARASCHEWSKI, H.; MEHLHORN, H. Chemotherapy of fish parasites. Parasitol. Res. 75, 503–511. doi:10.1007/BF00931157, 1989.

TANCREDO, K.R.; GONÇALVES, E.L.T.; BRUM, A.; ACCHILE, M.; HASHIMOTO, G.S.O.; PEREIRA, S.A.; MARTINS, M.L. Hemato-immunological and biochemical parameters of silver catfish *Rhamdia quelen* immunized with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. Fish Shellfish Immunol. 45, 689–694. doi:10.1016/j.fsi.2015.05.024, 2015.

TATAJE, D.A.R.; ZANIBONI-FILHO, E. Biologia e identificação de ovos e larvas de pixes do Alto Rio Uruguai. In: ZANIBONI-FILHO, E.; NUNER, A.P.O. Reservatório de Itá. Estudos Ambientais, Desenvolvimento de Tecnologias de Cultivo e Conservação da Ictiofauna. Editora UFSC, Florianópolis. 319p. ISBN978-85-328-0424-2, 2008.

TAVECHIO, W.L.G.; GUIDELLI, G.; PORTZ, L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. Bol. do Inst. Pesca 35, 335–341, 2009.

WEI, J.Z.; LI, H.; YU, H. Ichthyophthiriasis: Emphases on the epizootiology, Lett. Appl. Microbiol. 57, 91–101. doi:10.1111/lam.12079, 2013.

WEISS, L. A.; ZANIBONI-FILHO, E. Survival of diploid and triploid *Rhamdia quelen* juveniles in different ammonia concentrations. Aquaculture, [s.l.], v. 298, n. 1-2. p.153-156.. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.10.010>, 2009.

XU, D.H.; KLESIUS, P.H.; SHOEMAKER, C.A. Protective immunity of Nile tilapia against *Ichthyophthirius multifiliis* post-immunization with live theronts and sonicated trophonts. Fish Shellfish Immunol. 25, 124–127. doi:10.1016/j.fsi.2008.03.012, 2008.

XU, D.H.; PRIDGEON, J.W.; KLESIUS, P.H.; SHOEMAKER, C.A. Parasitism by protozoan *Ichthyophthirius multifiliis* enhanced invasion of *Aeromonas hydrophila* in tissues of channel catfish, Vet. Parasitol. 184, 101–107. doi:10.1016/j.vetpar.2011.09.020, 2012.

YUJI, R.; JOSÉ, Á.; BICUDO, D.A. Prevenção de doenças em peixes tem nutrição como fator determinante, P 80–82, 2013.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A. P.O. Reservatório de Itá. Estudos Ambientais, Desenvolvimento de Tecnologias de Cultivo e Conservação da Ictiofauna, 2008. Editora UFSC, Florianópolis. 319 p. ISBN978-85-328-0424-2

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A. P.O. Reservatório de Machadinho: peixes, pesca e tecnologias de criação, Editora UFSC, Florianópolis. 256p. ISBN 978-85-328-0594-2, 2012.

ZHANG, Q.; XU, D.H.; KLESIUS, P.H. Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Galla chinensis* against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*, *Vet. Parasitol.* 198, 45–53. doi:10.1016/j.vetpar.2013.08.019, 2013.