

DENISE CARLA DA SILVA MENDES

**SANIDADE DO AMBIENTE E DA OSTRAS *Crassostrea gasar*:
CULTIVADA NO MUNICÍPIO DE PRIMEIRA CRUZ, MARANHÃO,
BRASIL: Aspectos Microbiológicos, parasitológicos e de fauna
associada**

Documento de dissertação apresentado em cumprimento às exigências do Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Ícaro Gomes Antonio

Professores Colaboradores:

Prof. Dr^a. Camila Magalhães Silva

Prof. Dr. Tiago de Moraes Lenz

Prof. Dr^a. Verônica Maria de Oliveira

São Luís-MA

2018

DENISE CARLA DA SILVA MENDES

**SANIDADE DO AMBIENTE E DA OSTRA *Crassostrea gasar*:
CULTIVADA NO MUNICÍPIO DE PRIMEIRA CRUZ, MARANHÃO,
BRASIL: Aspectos Microbiológicos, parasitológicos e de fauna
associada**

Aprovada em: ____/____/____

Documento apresentado em
cumprimento às exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Recursos Aquáticos e Pesca da
Universidade Estadual do Maranhão
para obtenção do título de mestre.

Banca examinadora

Prof. Dr. Ícaro Gomes Antonio (Orientador)
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Prof^ª. Dr^ª. Rejeana Márcia Lima Silva (1^ºExaminador)
Instituto Federal do Maranhão (IFMA)

Prof^ª. Dr^ª. Camila Magalhães Silva (2^º Examinador)
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Prof^ª. Dr^ª. Marina Bezerra Figueiredo (Suplente)
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, por permitir o cumprimento de mais uma jornada.

Á meu marido Maxsuel Nascimento, pelo amor e apoio incondicional em todas as etapas de minha vida.

Á meus pais Sandra e Antônio pelo amor e apoio sempre.

Ás minhas irmãs Renata Mendes e Débora Mendes pelas trocas que tivemos em todo processo de minha pós-graduação.

Aos meus avós Raimundo e Maria que me inspiraram em mais essa realização.

Aos meus co-orientadores professores Tiago Lenz, Verônica Maria e Camila Magalhães pela ajuda essencial para a conclusão desse trabalho.

Ao meu orientador Ícaro Gomes pela orientação a mim fornecida, confiança e incentivo.

Aos meus companheiros de turma Hellon Viana, Ingrid Nascimento, Camila Sodré, Irayana Fernanda, Elidy Rayane, Dayane Pereira, Rosana Milke, Jorge Luís e Augusto, pelas trocas de conhecimentos nesses dois anos de convivência.

Á professora Débora Santos pela paciência e auxílio em minha jornada.

Ao grupo de pesquisa FISIOMAR por fornecer o suporte necessário à minha pesquisa.

Á Thaís Brito, Hugo e Derykeen, pela ajuda na fase de campo, sem vocês não seria possível a realização desse trabalho.

Á Emanuelle Prazeres pela ajuda com os bentos.

Á professora Ana Lúcia por possibilitar a fotografia de minhas lâminas histológicas.

Ao Grupo de Pesquisa Biologia e Ambiente Aquático- Bioaqua, pelo apoio estrutural para a realização desse trabalho.

Aos professores do PPGRAP por serem incríveis em seus ensinamentos, os quais levarei por toda minha vida acadêmica.

À CAPES pelo suporte financeiro a mim concedido.

Obrigada a todos!

RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar os aspectos microbiológicos, por meio da pesquisa de bactérias do gênero *Vibrio* sp., Coliformes e *Salmonella* spp., além de parasitas patogênicos na ostra *Crassostrea gasar* e na água de cultivo em Primeira Cruz, Maranhão, assim como identificar e quantificar a fauna associada às ostras. As amostras para microbiologia e análise de patógenos foram coletadas nos meses de novembro e dezembro de 2017 (período seco) e março e maio de 2018 (período chuvoso). As amostras para fauna associada foram colhidas nos três primeiros meses citados e em julho de 2018. Os resultados demonstraram que o Número mais provável (NMP) de coliformes Totais nas amostras de ostras variou de <3,0 a 210 NMP/g. O NMP de coliformes termotolerantes da água do cultivo foi <1,8/100 mL e o das amostras de ostras variou de <3,0 a 23 NMP/g. *Vibrio* sp. obteve mínimo de $2,6 \times 10^2$ e máximo $3,6 \times 10^2$ UFC/g, já *Salmonella* sp. foi ausente em todas as amostras. Quanto aos patógenos foram identificados *Nematopsis* sp., *Bucephalus* sp., *Tylocephalum* sp., Bactérias *Rickettsia* sp. Turbelários e metazoários não identificados. A prevalência total foi de (33,7%) e os parasitos mais prevalentes foram os Metazoários e *Nematopsis* sp. (11,2%) com infecções variando de moderadas a leves. *Bucephalus* sp. foi prevalente apenas em novembro e foi mais comumente localizado nas gônadas e glândula digestiva. Em intensidade elevada a infecção provocou intensa ocupação das gônadas com esporocistos e cercárias. Em relação a fauna acompanhante, foram quantificados 1321 indivíduos pertencentes a 28 táxons associados ao cultivo de ostra. O sub-filó Crustacea foi o mais abundante nas amostras (69,03 %) seguido pelo filo Mollusca, (22,93%). As espécies dominantes foram *Amphibalanus amphitrite*, *Amphibalanus venustus* e *Stramonita haemastoma* que juntos somaram (72,89 %) da população. As ostras e a água do ambiente apresentaram qualidade microbiológica dentro dos padrões, porém, ressalta-se a importância da criação de legislação que regule níveis basais para os demais grupos bacterianos causadores de gastroenterites envolvendo o consumo de moluscos consumidos *in natura*. A prevalência de

patógenos nos animais foi considerada baixa e os patógenos presentes nos tecidos das ostras não causaram grandes danos ao animal com exceção de *Bucephalus* sp. que é um potencial causador de castração parasitária. Os invertebrados possivelmente prejudiciais as ostras foram os caracóis do gênero *Stramonita* e as cracas *Amphibalanus* que possuem relações de competição e predação, sendo necessárias medidas de monitoramento e manejo para evitar perdas na população de ostras cultivadas.

Palavras-chave: Ostreicultura, microbiologia, parasitos, fauna associada.

ABSTRACT

The present work aimed to evaluate the microbiological aspects, through the research of bacteria of the genus *Vibrio* sp., Coliformes and *Salmonella* spp., As well as pathogenic parasites in the *Crassostrea gasar* oyster and the culture water in. quantify the fauna associated with oysters. Samples for microbiology and pathogen analysis were collected in November and December 2017 (dry season) and March and May 2018 (rainy season). Samples for associated fauna were collected in the first three months and in July 2018. The results showed that the most probable number (MPN) of total coliforms in oyster samples varied from <3.0 to 210 MPa / g. The NMP of cultured water thermotolerant coliforms was <1.8 / 100 mL and that of the oyster samples ranged from <3.0 to 23 NMP / g. *Vibrio* sp. obtained a minimum of $2,6 \times 10^2$ and a maximum of 3.6×10^2 UFC / g, already *Salmonella* sp. was absent in all samples. As for the pathogens were identified *Nematopsis* sp., *Bucephalus* sp., *Tylocephalum* sp., Bacteria *Rickettsia* sp. Unidentified turbellars and metazoa. The total prevalence was (33.7%) and the most prevalent parasites were Metazoa and *Nematopsis* sp. (11.2%) with infections varying from moderate to mild. *Bucephalus* sp. was prevalent only in November and was most commonly located in the gonads and digestive gland. In high intensity the infection caused intense occupation of the gonads with sporocysts and cercariae. In relation to the companion fauna, 1321 individuals belonging to 28 taxa associated to the oyster culture were quantified. The

Crustacea subsurface was the most abundant in the samples (69.03%) followed by the Mollusca phylum, (22.93%). The dominant species were *Amphibalanus amphitrite*, *Amphibalanus venustus* and *Stramonita haemastoma* which together added up (72.89%) of the population. The oysters and the water of the environment presented microbiological quality within the standards, however, it is important to create legislation that regulates basal levels for the other bacterial groups causing gastroenteritis involving the consumption of molluscs consumed in natura. The prevalence of pathogens in the animals was considered low and the pathogens present in the oyster tissues did not cause great damages to the animal except for *Bucephalus* sp. which is a potential cause of parasitic castration. The invertebrates possibly harmful to oysters were the snails of the Stramonite genus and the *Amphibalanus* barnacles that have competition and predation relationships, and monitoring and management measures are necessary to avoid losses in the cultivated oyster population.

Keywords: Oyster Farming, microbiology, parasites, Associated fauna.

LISTA DE FIGURAS

TEXTO INTEGRADOR

Figura 1. Localização do ponto do cultivo experimental de ostra, no povoado Areinhas, município de Primeira Cruz, MA _____ 26

Figura 2. Cama de cultivo de ostras em Primeira Cruz-MA _____ 27

CAPÍTULO I

Figura 1. Localização do cultivo experimental de ostras em Areinhas, Primeira Cruz, MA _____ 38

Figura 2. Média e desvio padrão da altura de *C.gasar* coletada no município de Primeira Cruz-MA _____ 42

Figura 3. Percentual de intensidade de infecção em *C.gasar* cultivada em Primeira Cruz-MA _____ 44

Figura 4. Parasitos em *C. gasar* cultivada em ambiente estuarino no município de Primeira Cruz, Maranhão, Brasil. **A.** Turbelário não identificado no tecido conjuntivo (círculo), com infiltração dos hemócitos evidente. Barra= 50µm. **B.** *Tylocephalum* sp. no tecido conjuntivo (seta). **C.** Verme não identificado no lúmen digestivo (seta), barra=200 µm. **D.** *Nematopsis* sp. (setas) no tecido conjuntivo. **E.** Oocistos de *Nematopsis* sp. Barra= 200 µm. **F.** Esporocistos (setas finas), e cercarias (setas largas) de *Bucephalus* sp., na glândula digestiva. Barra= 200 µm. **G.** Cercaria de *Bucephalus* sp. (seta) na glândula digestiva. Barr=50µm. **H.** Colônia de *Rickettsia* sp. na glândula digestiva (setas). Barra=200 µm. _____ 45

CAPÍTULO II

Figura 1. Localização da estrutura de cultivo experimental de ostras em Areinhas, Primeira Cruz, Maranhão, Brasil _____70

Figura 2. Variáveis abióticas da água do cultivo experimental de ostras em Primeira Cruz, MA _____72

Figura 3. A: relação da diversidade e equitabilidade da fauna bêntica com a salinidade nos meses de novembro e dezembro de 2017, março e julho de 2018 no cultivo de ostras em Primeira Cruz, MA. B: Riqueza observada nos meses de amostragem _____73

Figura 4. Espécies associadas ao cultivo de *C.gasar* em Primeira Cruz, MA. A.A: Abundância Absoluta; A.R: Abundância Relativa _____75

Figura 5. Abundância absoluta (A) e relativa (B) por grupos de invertebrados associados ao cultivo de ostras nos meses de novembro, dezembro de 2017 e março e julho de 2018 em Areinhas, Primeira Cruz, MA _____76

Figura 6. Frequência de ocorrência (FO) dos organismos bênticos associados ao cultivo de ostras em Areinhas, Primeira Cruz, MA _____77

Figura 7. Distribuição temporal das espécies mais abundantes associadas ao cultivo da ostra *C.gasar* em Primeira Cruz, MA _____79

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Níveis de intensidade de infestação por patógenos em moluscos bivalves _____31

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Variáveis abióticas da água de cultivo nos meses de amostragem da estação seca e chuvosa_____ 41

Tabela 2. Quantificação de Coliformes Termotolerantes e Totais, *Vibrio* sp. em amostras de ostras cultivadas em Primeira Cruz-MA_____ 42

Tabela 3. Prevalência mensal e total (%) de parasitos em *C. gasar* nos meses das estações seca e chuvosa (n total=80 e n mensal=20)_____ 43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS.....	16
Geral.....	16
Específicos	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
3.1 Bactérias em moluscos bivalves.....	16
3.2 Coliformes Totais e Termotolerantes	18
3.3 Gênero <i>Vibrio</i>	19
3.4 Gênero <i>Salmonella</i>	20
3.5 Patógenos em moluscos bivalves	21
3.5.1 <i>Nematopsis</i> sp.....	22
3.5.2 Trematódeos Digenéticos.....	22
3.5.3 Gênero <i>Rickettsia</i>	23
3.5.4 Classe Turbellaria	24
3.5.5 <i>Tylocephalum</i> sp.....	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Caracterização da área de estudo	24
4.2 Caracterização do Cultivo de ostras	25
4.3 Procedimento de campo	25
4.3.1 Variáveis ambientais	27
4.3.2 Análises microbiológicas.....	27
4.3.2.1 Processamento e diluição das amostras	28
4.3.2.2 Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes na água e no tecido da ostra	28
4.3.2.2 Análise de <i>Vibrio</i> sp.....	29
4.3.2.3 Presença de <i>Salmonella</i> sp.....	29
4.3.3 Análise microscópica de patógenos	30
4.3.4 Coleta e processamento da fauna associada aos animais cultivados.....	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 CAPÍTULO I	34
RESUMO	34

ABSTRACT	35
INTRODUÇÃO	36
MATERIAIS E MÉTODOS	37
Coleta da água e das ostras	37
Processamento e análise microbiológicas.....	38
Análise de parasitos	40
RESULTADOS	41
Microbiologia da água e das ostras	41
Variáveis biométricas	41
Identificação e quantificação de parasitos	42
DISCUSSÃO.....	46
CONSIDERAÇÕES	52
AGRADECIMENTOS	52
REFERÊNCIAS	53
BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA.....	60
INSTRUÇÃO AOS AUTORES	60
5.2 CAPÍTULO II	67
RESUMO	67
INTRODUÇÃO	68
MATERIAIS E MÉTODOS.....	69
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
CONSIDERAÇÕES	81
REFERÊNCIAS	82
Anais da Academia Brasileira de Ciências- Instrução aos autores	88
6. CONCLUSÃO GERAL	92
REFERENCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de moluscos bivalves no Brasil é uma atividade recente, datando de pouco mais de quarenta anos. A ostreicultura mais especificamente possui enfoque em três espécies, as endêmicas *Crassostrea rhizophorae* (Guilding 1828) e *Crassostrea gasar* (Adanson 1757) e a espécie exótica *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793).

No Maranhão o cultivo de bivalves teve início no ano de 1999 por meio de recursos governamentais com a ostra *C.rhizophorae* e o sururu *Mytella falcata* nos municípios de Alcântara e Paço do Lumiar (RAMOS e CASTRO, 2004; SOUSA, 2005). A partir de então, através dos Planos Locais de Desenvolvimento da Maricultura (PLDM) essas áreas foram delimitadas como favoráveis a essa atividade. Tendo o município de Primeira Cruz em destaque por suas características oceanográficas favoráveis como extensa área de manguezal, condições ambientais ideais e ocorrência de bancos naturais de ostras (MARANHÃO, 2003).

Desde então, pesquisas vêm sendo desenvolvidos com *C. rhizophorae* e *C. gasar* as quais ocorrem naturalmente nos estuários do estado e possuem bom crescimento em ambiente natural (PEREIRA et al., 2003; LOPES et al., 2018).

Para que seja possível o desenvolvimento da ostreicultura é importante que sejam monitorados os aspectos sanitários dos animais cultivados e das áreas de cultivo. As ostras são animais filtradores que se alimentam por meio do bombeamento de água para seu interior, o que as tornam suscetíveis ao acúmulo de substâncias e microrganismos (bactérias, vírus, protozoários) presentes no ambiente sendo assim, consideradas bioindicadores de qualidade ambiental (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2004; PEREIRA et al., 2006; PONTUAL et al., 2006; ZHANG et al., 2015).

As ostras são habitualmente consumidas *in natura* fato que as tornam veículos de transmissão de microrganismos patogênicos aos seres humanos, tornando o seu consumo um potencial risco à saúde pública (VIEIRA et al, 2007).

Por isso são necessários a avaliação, o monitoramento e controle da microbiota em moluscos cultivados para prevenção de doenças transmitidas por alimentos (DOI et al., 2015).

Moluscos bivalves de cultivos podem ser hospedeiros de diversas parasitos. Eles invadem o corpo dos organismos e lá encontram condições para seu desenvolvimento. Bivalves funcionam como hospedeiros intermediários desses parasitos e seu ciclo de vida é completo, quando saem do hospedeiro intermediário em busca do definitivo, que muitas vezes são animais do próprio ambiente estuarino (DAME, 1996).

A maioria deles não compromete o equilíbrio fisiológico dos moluscos, se desenvolvendo sem maiores prejuízos aos tecidos do hospedeiro. No entanto, alguns grupos são potencialmente danosos aos animais, como é o caso do trematódeo digenético do gênero *Bucephalus* sp. que pode ocasionar a morte do hospedeiro pelo rompimento dos tecidos (BOEHS et al., 2012). Desta forma, o monitoramento desses parasitos é uma importante ferramenta para avaliar a sanidade dos organismos cultivados (BOWER et al., 1994).

Na ostreicultura não somente as parasitoses podem trazer prejuízos à atividade, mas, também relações ecológicas entre outros animais e os cultivados que podem ser de competição, predação e podem gerar problemas em termos de produção (LODEIROS, et al., 2001; URIBE et al., 2001). A fauna mais comumente encontrada associada na ostreicultura é composta por invertebrados aquáticos dos quais se destacam o grupo dos anelídeos, crustáceos, cirripídeos, moluscos, equinodermos, nematódeos, hidrozoários, briozoários, ascídias, e sipunculídeos (NEVES e VALENTIM, 2011).

Para amenizar a pressão de competição e predação exercida pela fauna acompanhante aos organismos cultivados medidas tem sido adotadas tais como aplicação de produtos químicos, sprays, coleta manual e controle biológico através da inserção de espécies herbívoras ou onívoras como o ouriço-do-mar, que emprega a raspagem do substrato como forma de obtenção de alimento. As duas últimas medidas têm se mostrado mais eficazes e menos prejudiciais ao cultivo (GELLI et al., 2005; ROMA et al., 2009). Em locais onde o controle biológico ainda não é possível a medida mais eficiente para reduzir as incrustações é o manejo periódico manual das estruturas. A falta de práticas de

manejo pode favorecer o aumento da população de predadores, competidores e parasitas, levando assim perdas na produção.

O município de Primeira Cruz está inserido na área do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, local de grande importância econômica para o estado do Maranhão. Deste modo, o presente trabalho objetiva avaliar aspectos sanitários das ostras e do ambiente de cultivo, assim como as relações com os parasitos e a fauna associada ao cultivo, fornecendo informações básicas para implantar e desenvolver a ostreicultura nos estuários maranhenses.

2 OBJETIVOS

Geral

- Avaliar aspectos sanitários das ostras *Crassostrea gasar* e do ambiente de cultivo, assim como estabelecer as relações entre os parasitos e a fauna associada ao cultivo no município de Primeira Cruz, Maranhão, Brasil.

Específicos

- Quantificar os Coliformes totais e termotolerantes na água do cultivo e nas ostras, assim como identificar as bactérias do gênero *Vibrio* e *Salmonella* nas ostras cultivadas, comparando os dados obtidos com as legislações vigentes;
- Identificar os parasitos microscópicos associados aos tecidos das ostras cultivadas, avaliando a prevalência e grau de infecção;
- Identificar ao menor nível taxonômico possível a fauna associada ao cultivo de ostras descrevendo os aspectos ecológicos e os possíveis efeitos nos organismos cultivados.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Bactérias em moluscos bivalves

Moluscos bivalves são organismos filtradores e devido à suas características fisiológicas, são suscetíveis ao acúmulo de várias espécies de microrganismos, como protozoários, vírus e bactérias, assim como metais pesados e ficotoxinas (PAILLARD et al., 2004; PRUZZO et al., 2005; IWAMOTO et al., 2010).

As ostras possuem a capacidade de filtrar aproximadamente 19 a 40 litros de água por hora, concentrando em seus tecidos uma maior quantidade de bactérias quando comparado ao ambiente, resultando na bioacumulação dos contaminantes (PEREIRA et al., 2006). Devido às ostras serem habitualmente consumidas *in natura* as torna veículos de transmissão patogênicas aos seres humanos, tornando o seu consumo um potencial risco à saúde pública.

As bactérias que podem contaminar o pescado e que fazem parte da microbiota natural da água estão inclusas: *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. vulnificus* e *Listeria monocytogenes* além dessas bactérias intestinais da família Enterobacteriaceae, como *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* e *Escherichia coli*. Essas espécies fornecem informações seguras sobre as condições higiênico-sanitárias da água de cultivo e dos animais cultivados (JAY, 2000).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução de nº 12 de 2001 regulamenta os padrões microbiológicos para alimentos. Ela toma como parâmetros sanitários as densidades de coliformes a 45°C, *Staphylococcus* coagulase positiva e a presença de *Salmonella sp.* (BRASIL, 2001).

Já no aspecto ambiental é o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) que dispõe as normas de qualidade de águas salobras e salgadas destinadas ao cultivo de organismos aquáticos, incluindo nesta categoria águas para cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana. A resolução CONAMA nº 357/05, determina dois grupos bacterianos como padrões de qualidade microbiológica da água, os Coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (BRASIL, 2005).

3.2 Coliformes Totais e Termotolerantes

Coliformes são grupos de bactérias em formato de bastonete, gram-negativas, não esporogênicas, anaeróbias ou aeróbias facultativas que possuem como habitat natural o trato intestinal do homem, de animais, o solo e os vegetais. Pertencem à família Enterobacteriaceae que inclui muitos gêneros, sendo os principais, *Escherichia*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia* e *Citrobacter*.

Coliformes totais possuem mais de 20 espécies que tem a capacidade de fermentar a lactose com produção de gás a 35°C e são encontrados naturalmente tanto no ambiente quanto no trato intestinal do homem e animais. Já os coliformes termotolerantes fermentam lactose a 44,5°C e apresentam produção de gás. Nesse grupo estão inseridas bactérias que crescem no trato gastrointestinal de animais homeotérmicos. A sua presença no ambiente e em alimentos é indicativa de contaminação por efluentes de origem fecal (SILVA, CAVALLI e OLIVEIRA, 2006; CODEX, 2008).

Considerando a contaminação por origem fecal, a bactéria *Escherichia coli*, é a única que possui como habitat primário o intestino humano e de animais de sangue quente. Sua presença em alimentos ou na água indica contaminação direta ou cruzada. Esse procarionte possui a característica de transformação de um simples comensal a uma bactéria altamente especializada. As cepas patogênicas estão associadas a surtos de gastroenterites espalhados pelo mundo, causando doenças que podem ser simples colonizações de mucosas e meningites à intensas infecções gastrointestinais (COSTA, 2013; SANTOS e VIEIRA, 2013).

E. coli é utilizada na aferição do grau de poluição fecal em águas há aproximadamente 70 anos. Durante este tempo foi compilado um grande número de dados que permitem avaliação da sensibilidade e especificidade deste indicador da presença de poluição por origem fecal que no Brasil é amplamente utilizado para o monitoramento ambiental e alimentar (SILVA, CAVALLI e OLIVEIRA, 2006).

3.3 Gênero *Vibrio*

As bactérias do gênero *Vibrio* são pertencentes à família *Vibrionaceae*, possuem formato de bastonete, são gram-negativas e móveis, contendo em sua maioria um único flagelo polar (BAUMANN e SCHUBERT, 1984). São naturalmente encontradas em ambientes marinhos e estuarinos, podendo ser de vida livre ou ligada a sedimentos. Algumas espécies são capazes de crescer em meio contendo altas concentrações de sal sendo denominadas como halofílicas (MURRAY et al., 2004; AUSTIN, 2009; TALL et al., 2013).

O gênero possui mais de 100 espécies descritas e pelo menos uma dúzia delas são relatadas como patogênicas aos seres humanos (AUSTIN, 2005). Elas têm sido isolados de animais aquáticos de água doce e marinha, tais como bacalhau, sardinha, cavala, marisco, polvo, camarão, caranguejo, lagosta, lagostim, vieira e ostra (MESSELHÄUSSER et al., 2010).

O consumo de ostras mal cozidas ou cruas, contaminadas com cepas de *Vibrio* podem levar ao desenvolvimento de gastroenterites agudas caracterizada por diarreia, dor de cabeça, vômito, náuseas, cólicas abdominais e febre baixa. Além das enfermidades citadas, esse patógeno pode provocar infecções em ferimentos abertos que tenham sido expostos à água do mar, no entanto, raros são os casos relatados de infecções fatais (SU e LIU, 2007).

De todo o gênero, a espécie *V. parahaemolyticus* é considerada a mais importante nas regiões costeiras de clima temperado e tropical (MARTINEZ-URTAZA et al., 2004; DA SILVA et al., 2012). Ela está associada a eventos de gastroenterites transmitidas pelo consumo de alimentos de origem marinha (KAYSNER e DEPAOLA, 2001; WANG et al., 2011).

No Brasil, estudos revelaram a presença de *V. parahaemolyticus*, *V. carchariae*, *V. alginolyticus* e *V. vulnificus* em ambientes aquáticos salinos e isolados a partir de alimentos de origem marinha, incluindo as ostras (RODRIGUES et al., 2001; CABRERA-GARCIA et al., 2004; VIEIRA et al., 2004).

Países com temperaturas anuais elevadas, como é o caso do Brasil, registram maiores ocorrências de *Vibrio*, pois elas são abundantes nos meses mais quentes. Principalmente em países tropicais, devido à multiplicação bacteriana favorecida pelo aumento da temperatura e salinidade da água

(KAYSNER e DEPAOLA, 2001; FUENZALIDA et al., 2006). Portanto, ressalta-se a importância do estudo desse gênero para moluscos oriundos de ambientes estuarinos tropicais.

3.4 Gênero *Salmonella*

Pertencente à família Enterobacteriaceae as bactérias do gênero *Salmonella* são bastonetes, gram-negativos, entéricos, anaeróbios facultativos, não formadores de esporos e podem ser móveis ou imóveis. A maioria das espécies produz sulfeto de hidrogênio, não fermentam a lactose e podem ser detectadas prontamente por crescimento em meios contendo sulfato ferroso (JARONI, 2014).

Quanto ao padrão clínico elas são classificadas em três categorias: as pertencentes ao trato intestinal dos seres humanos, (*S. typhi* e *S. paratyphi*) causadores da febre entérica, as pertencentes ao trato intestinal dos animais, como bovinos, suínos e aves e as *Salmonellas* zoonóticas que incluem sorovares ubíquos que afetam humanos e animais (ZHAO et al., 2008).

Salmonella spp. são causadoras das gastroenterites mais comuns ao homem, a salmonelose, que causa diarreia, calafrios, e dor abdominal. Estima-se que anualmente a doença acomete dezenas de milhões de pessoas de todo o mundo e é causada pela ingestão de água ou alimentos contaminados com a bactéria (OMS, 2013).

A contaminação de corpos aquáticos pela bactéria ocorre devido ao despejo de resíduos de atividades humanas e da vida selvagem ao seu entorno. Uma vez que esse gênero não é natural do ambiente e as ostras podem acumular suas cepas patogênicas e transmiti-las ao homem pela ingestão do alimento cru.

Assim, *Salmonella* é de grande preocupação e importância para a produção de ostras, necessitando ser monitorada, evitando riscos à saúde do consumidor.

3.5 Patógenos em moluscos bivalves

A ocorrência de doenças é um dos principais fatores que limitam o cultivo de bivalves marinhos. Estudos sobre as patologias que acometem moluscos fornecem informações importantes tanto para o manejo sustentável de bancos naturais como para a manutenção de animais em cultivo.

As enfermidades que mais afetam os moluscos bivalves marinhos no mundo são as causadas por protozoários, como *Haplosporidium spp.* e *Perkinsus marinus* em *Crassostrea virginica*, *Mikrocytos mackini* em *Crassostrea gigas*, *Mikrocytos roughleyi* em *Saccostrea commercialis*, *Marteilia refringens* em *Ostrea edulis* e *Bonamia sp.*, *Nematopsis sp.* e *Trichodina sp.* em ostras dos gêneros *Ostrea* e *Crassostrea* (VILLALBA, 2002).

No Brasil os principais registros de agentes patogênicos em moluscos bivalves são bactérias *Rickettsia sp.*, protozoários *Sphenophrya sp.*, *Trichodina sp.*, *Ancistrocoma sp.*, *Nematopsis sp.*, *Perkinsus sp.*, *Steinhausia mytilovum*, *Urastoma sp.*, Bucéfálideos, *Tylocephalum sp.*, poliqueta *Polydora websteri*, o copépode *Pseudomyicola spinosus* e fungos não identificados (BOEHS et al., 2012).

As enfermidades em moluscos bivalves influenciam nas taxas metabólicas do indivíduo, afetando o crescimento e reprodução, podendo em alguns casos afetar a morfologia do animal. Em nível de populações, essas doenças podem alterar a estrutura, reduzindo o tamanho, distribuição e abundância, podendo temporalmente levar a extinção (DAME, 1996).

Para o gênero *Crassostrea* os principais parasitos relatados no mundo são: *Haplosporidium spp.*, *Perkinsus marinus*, *Mikrocytos mackini*, *Nematopsis sp.*, *Trichodina sp.*, *Polydora sp.*, *Tylocephalum sp.*, *Haplosporidium nelsoni*, *Cryptosporidium spp* (WINSTEAD et al., 2004; MALEK e BEYERS, 2017; PAGOSO e RIVIERA, 2017).

No Brasil os patógenos que acometem o gênero são bactérias *Rickettsia sp.*, protozoários *Sphenophrya sp.*, *Trichodina sp.*, *Ancistrocoma sp.*, *Nematopsis sp.*, *Perkinsus sp.*, os metazoários *Urastoma sp.*, *Bucephalus sp.*, *Tylocephalum sp.*, o poliqueta *Polydora websteri*, o copépode *Pseudomyicola spinosus* e o fungo

Ostracobable implexa. Todos esses parasitos foram identificados infectando as ostras *C. rhizophorae*, *C. gigas* e *C. gasar* em estuários costeiros (SABRY e MAGALHÃES, 2005; SABRY et al., 2007; BOEHS et al., 2009; ZEIDAN et al., 2012; BRANDÃO et al., 2013; COVA et al., 2015; SCARDUA et al., 2017).

3.5.1 *Nematopsis* sp.

Nematopsis spp. são parasitos intrahemocíticos cujos sítios preferenciais de infecção são as brânquias e o manto, podendo também ser encontrados na glândula digestiva, palpos labiais e pé de bivalves (BRANDÃO et al., 2013). Esses protozoários utilizam bivalves marinhos como hospedeiros intermediários e completam seu ciclo de vida no tubo digestivo de crustáceos, estando assim entre os mais importantes patógenos de bivalves na aquicultura (CARBALLAL et al., 2001; AZEVEDO e CACHOLA, 1992).

No Brasil *Nematopsis* sp. foi registrado em *Crassostrea rhizophorae*, *Mytella guyanensis* e *Anomalocardia brasiliana* no estado da Bahia (PINTO e BOEHS, 2008; BOEHS et al., 2010; ZEIDAN et al., 2012; CEUTA e BOEHS, 2012; COVA et al., 2015), no mexilhão *Perna perna* da Lagoa de Itaipu-RJ (LIMA et al., 2001), em moluscos da região da Amazônia (MATOS et al., 2001), em *Anomalocardia brasiliana* em Florianópolis-SC (MAGALHÃES et al., 2002) e em *C. rhizophorae* e *Crassostrea gigas* da Ponta do Sambaqui, Santa Catarina (SABRY e MAGALHÃES., 2005).

3.5.2 Trematódeos Digenéticos

Os trematódeos digenéticos são metazoários que compreendem mais de 40.000 espécies e apresentam o ciclo vital mais complexo não só dentre os platelmintos, mas em todo o reino animal (CHENG, 1978). Eles utilizam moluscos como hospedeiros intermediários e peixes carnívoros como hospedeiros definitivos. Um dos gêneros de digenéticos mais conhecidos é o *Bucephalus* sp. causador da bucefalose, também conhecida como enfermidade laranja (MAGALHÃES, 1998). As áreas de maior ocorrência do parasito no corpo dos

moluscos são gônadas, glândula digestiva e brânquias (DA SILVA, MAGALHÃES e BARRACCO, 2002).

Esse parasito é de extrema importância na maricultura, pois, ele pode causar prejuízos ao hospedeiro, causando a morte por rompimento dos tecidos através da saída das cercarias em busca do próximo hospedeiro. Além da castração parasitária que pode ocorrer nas gônadas impedindo ou dificultando o desenvolvimento das células germinativas do molusco (BOEHS et al., 2012).

O gênero *Bucephalus* sp. no Brasil tem sido registrado em diversas espécies de moluscos tais como: *Crassostrea rhizophorae* (NASCIMENTO et al., 1986; ROMÃO et al., 2014; BRANDÃO et al., 2013; LUZ e BOEHS, 2015), Mexilhão *Perna perna* (UMJI, et al., 1976; DA SILVA, MAGALHÃES e BARRACCO, 2002), *Mytella guyanensis* (BOEHS et al., 2009; CEUTA e BOEHS, 2012), *Lucina pectinata* (OLIVEIRA, 2008; RIBEIRO et al., 2018) e *Anomalocardia brasiliiana* (ARAÚJO e ROCHA-BARREIRA, 2004; DA SILVA et al., 2012).

3.5.3 Gênero *Rickettsia*

Rickettsia é um gênero de bactérias Gram-negativas, intracelulares obrigatórias. Nesse grupo encontram-se espécies responsáveis por causar doenças uma das mais conhecidas é a febre maculosa que acomete seres humanos e animais selvagens (PAROLA et al. 2013).

É também isolado em moluscos bivalves, porém, não causam lesões severas no hospedeiro, exceto em altas densidades (CARBALLAL et al., 2001). Quando registradas, as lesões histopatológicas mais encontradas foram, a hipertrofia das células e a ruptura dos túbulos digestivos por isso, o monitoramento deste patógeno para a sanidade de bivalves cultivados (CREMONTE et al., 2005).

No Brasil o gênero foi identificado no estado da Bahia em *M. guyanensis*, *C. rhizophorae*, *A. brasiliiana* e *Iphigenia brasiliiana* (BOEHS et al., 2010; CEUTA e BOEHS, 2012; ZEIDAN et al., 2012; COVA et al., 2015), no Ceará em *A. brasiliiana* (FERREIRA et al., 2008) e em Santa Catarina na ostra *Crassostrea gigas* (PONTINHA, 2009).

3.5.4 Classe Turbellaria

Os turbelários são vermes do filo Platyhelminthes, na sua grande maioria de vida livre, são animais de simetria bilateral e acelomados. Possuem epiderme ciliada e tubo digestivo com fundo cego, desprovido de ânus. São caracteristicamente, de hábitos predadores e vivem em ambientes aquáticos, marinhos ou de água doce, ou em ambientes terrestres úmidos. Geralmente são de tamanhos pequenos, a maioria tem de um a poucos milímetros, mas em dois grupos, um marinho e outro terrestre, com comprimento da ordem de centímetros, há formas que podem atingir meio metro ou mais (FROEHLICH e CARBAYO, 2011). São conhecidos por infectarem moluscos bivalves e em intensidades baixas, mas, não causam danos aos seus hospedeiros (CEUTA e BOEHS, 2012).

3.5.5 *Tylocephalum* sp.

Tylocephalum é um gênero de organismos cestóides que tem como hospedeiros definitivos os elasmobrânquios. Moluscos bivalves funcionam como hospedeiros intermediários e dentro dele são encontrados parasitos em diversos estágios (LAUCKNER, 1983). Geralmente provocam respostas de defesa no hospedeiro com encapsulamento larval do parasito e infiltração de hemócitos, porém, sem causar danos aos tecidos (BOEHS, 2010).

No estado do Maranhão não há registros dos patógenos que infectam as ostras *C. gasar*, sendo o estudo de tais de importância para subsidiar o desenvolvimento da ostreicultura maranhense.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

O cultivo experimental de ostras localiza-se em uma área estuarina no povoado de Areinhas, (2°25'15,9"S, 43°26'5,1" W) que pertence ao município de

Primeira Cruz, inserido na microrregião dos Lençóis Maranhense e Mesorregião Norte Maranhense. A área territorial é de 1.367 Km² e população estimada de 13.954 habitantes (IBGE, 2016). Seus limites de terra ocorrem com os municípios de Belágua ao sul, Humberto de Campos a leste, Santo Amaro do Maranhão a oeste e com o Oceano Atlântico ao norte (Figura 1).

As temperaturas são superiores a 27°C, com sazonalidade demarcada por um período seco e outro chuvoso. O litoral está sobre a formação geológica de aluviões marinhos e feição geomorfológica do litoral com o predomínio de solos indiscriminados ao longo de todo litoral que favorecem a vegetação de mangue. O município está inserido na Bacia Hidrográfica do Peria e apresenta precipitação pluviométrica anual variando de 1.600 a 2.000mm (MONTELES et al., 2010).

4.2 Caracterização do Cultivo de ostras

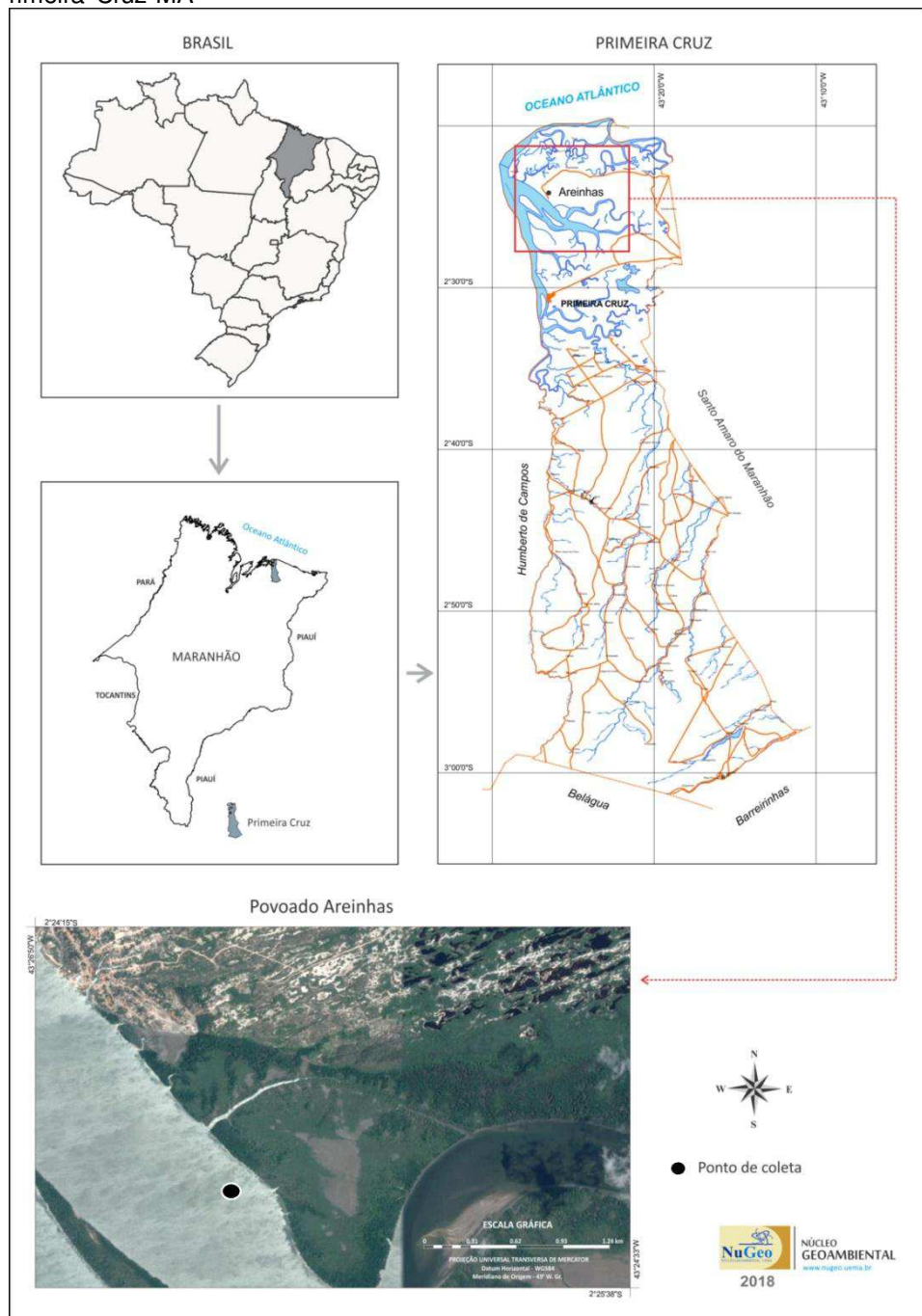
A estrutura onde as ostras foram cultivadas é denominada de cama ou mesa fixa que é constituída de cano de Policloreto de Vinila (PVC) e telas vazadas. As dimensões da cama são de seis metros de comprimento por um metro e vinte cinco centímetros de largura e um metro e meio de altura.

A unidade de cultivo instalada permitiu que as ostras fossem expostas por duas horas ao dia na baixa-mar. As densidades utilizadas para o cultivo foram de 80, 120, 160 e 200 indivíduos por travesseiro, com quatro repetições por densidade.

4.3 Procedimento de campo

Foram realizadas quatro coletas de amostras de água, ostras e fauna associada ao cultivo em período diurno a baixa mar nos meses de novembro e dezembro de 2017 (período de estiagem) e março e maio e julho de 2018 (período chuvoso).

Figura 1- Localização do ponto do cultivo experimental de ostras no Povoado de Areinhas, município de Primeira Cruz-MA



Fonte: Núcleo Geoambiental-NuGeo, 2018

Figura 2- Cama de cultivo de ostras em Primeira Cruz-MA



Fonte: Mendes, 2018

4.3.1 Variáveis ambientais

Os dados abióticos (temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido) foram mensurados *in situ* através de aparelho multiparâmetro da marca HANNA e refratômetro manual. A precipitação dos meses estudados foi obtida junto ao Núcleo Geoambiental da UEMA (NUGEO/UEMA).

4.3.2 Análises microbiológicas

Em cada mês de amostragem foi coletado de maneira asséptica, um litro de água do ambiente e 30 exemplares de ostra totalizando 120 amostras. O material coletado foi devidamente acondicionado em caixa isotérmica no tempo

máximo de 24 horas e encaminhado ao laboratório na Universidade Estadual do Maranhão para a realização das análises microbiológicas.

4.3.2.1 Processamento e diluição das amostras

Em laboratório as ostras foram lavadas, secadas e abertas com auxílio de uma faca estéril e evisceradas. A carne da ostra junto com o líquido intervalvar foram pesados em balança de precisão e 25 gramas de amostra foram triturados e adicionados em 225 mL de água peptonada 0,85% para enterobacteriaceae e 15 para *Vibrio* sp. através de triturador automático para o prosseguimento das demais análises.

4.3.2.2 Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes na água e no tecido da ostra

Teste presuntivo

Foram organizados quatro séries de cinco tubos com 9 mL de Caldo Lauril Sulfato (LST)- Difco, com tubos de Durham invertidos e diluições seriadas de salina esterilizada 0,85 de acordo com American Public Health Association (APHA, 2012). Alíquotas de 1mL de cada diluição (10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} das amostras da água e 10^{-1} a 10^{-4} de ostra), foram transferidas para os tubos que foram incubados a 35°C/48 horas. Após esse período, os tubos que apresentaram turvação e produção de gás, foram considerados positivos e submetidos as demais análises.

Teste confirmatório

Dos tubos positivos no teste presuntivo foram retiradas alíquotas que foram transferidas para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC)-Difco, com tubos de Durham invertidos e Verde Bile Brilhante- (VBB) 2%. Os inóculos em EC foram incubados a 45°C em banho-maria por 24 horas e os tubos contendo inóculo em VBB foram incubados em estufa a 35°C por 24 horas. A positividade do teste foi verificada pela turvação do meio e produção de gás. O cálculo do Número Mais Provável (NMP) foi feito através da consulta à tabela do NMP de acordo com Bacteriological Analytical Manual of the Division of Microbiology. (BAM, 1998).

4.3.2.2 Análise de *Vibrio* sp.

Para a contagem de *Vibrio* 25 gramas da amostra de ostra foram homogeneizados em 225 mL do diluente água peptonada tamponada a 1% por 30 minutos. A partir da diluição inicial 10^{-1} , preparou-se uma série de diluições decimais (10^{-2} até 10^{-4}) utilizando-se o mesmo diluente. Após o período de incubação foi verificada a positividade dos tubos (turvação) para a confirmação da presença de *Vibrio*. Dos tubos positivos retirou-se alíquotas de 0,2 mL, de cada diluição e estas foram espalhadas na superfície no meio Agar Tiosulfato-citrato-bile-sacarose (TCBS) com a alça de Drigalski através da técnica do *spread plate* (BARON et al., 1994).

As placas com crescimento de colônias (sacaroses positivas e negativas) foram contadas observando se o intervalo entre 25 a 250 colônias. A contagem padrão de placas CPP em Unidade Formadora de Colônia por grama (UFC/g⁻¹) foi realizada através da fórmula: N° de colônias x inverso da diluição x inóculo (DOWNES e ITO, 2001).

4.3.2.3 Presença de *Salmonella* sp.

Pré-enriquecimento

Foram pesadas e macerados 25g de amostra e homogeneizadas em 225 mL de Caldo Lactosado-Difco (CL-Difco) em Erlenmeyer em seguida incubado em estufa de crescimento por 24 horas, à temperatura de 37°C.

Enriquecimento Seletivo

Após a incubação, alíquotas de 0,1mL e 1,0 mL foram retiradas do CL e inoculadas em tubos contendo 10 mL de Caldo Rappaport (Difco) e Caldo Selenito e incubados a 42°C e 43°C, respectivamente, por 24 horas em banho-maria. A partir do crescimento microbiano em ambos os tubos, alíquotas de cada meio foram retiradas com o auxílio de uma alça de níquel-cromo e estriadas em placas de Petri contendo os meios seletivos de ágar Hektoen (HE) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD).

Plaqueamento diferencial

As colônias que apresentarem crescimento característico de *Salmonella* (colônias enegrecidas) nos ágar HE e XLD foram inoculadas em ágar Ferro Açúcar Triplo TSI-(Difco) e em ágar Lisina Ferro LIA (Difco) e incubadas a 37°C por 24 horas. A partir do crescimento positivo nos tubos (ácido na base e alcalino no ápice para o meio ágar TSI, e alcalino, com ou sem produção de H₂S para o meio ágar LIA) foi identificada presença ou ausência da bactéria.

4.3.3 Análise microscópica de patógenos

Foram coletados vinte (20) exemplares de *Crassostrea gasar* e encaminhados ao Laboratório de Fisiocologia, Reprodução e Cultivo de Organismos Marinhos – FISIOMAR da Universidade Estadual do Maranhão para o processamento histológico.

Em laboratório, foram realizadas as medidas biométricas de altura das valvas através de paquímetro de precisão de 0,05 mm e pesagem das ostras. Após esse procedimento as partes moles foram seccionadas de forma transversal,

amostrando-se brânquias, manto, glândula digestiva e gônadas segundo Howard e Smith (1983). As amostras foram fixadas em solução de Davidson salino por aproximadamente 24 horas e posteriormente retiradas e armazenadas em frascos contendo álcool a 70%.

O processamento histológico seguiu rotina clássica de desidratação em séries de álcool, diafanização em xileno, clarificação e inclusão em parafina. Os blocos confeccionados foram cortados a 5 µm em micrótomo da marca ANCAP. As secções resultantes foram inseridas em lâminas e coradas em Hematoxilina e Eosina de Harris (HE). Após a coloração a montagem das lâminas com lamínula foi procedida com meio sintético Entellan®. A leitura das lâminas foi realizada com uso de microscópio óptico ZEISS Primo Star e quando necessário foto micrografadas.

Através das lâminas foram realizadas a identificação, quantificação do número de parasitos e seu local de ocorrência no animal, além da intensidade de infestação. A prevalência foi calculada em função do número de animais infectados pelo número de animais analisados de acordo com Bush et al., (1997), os resultados foram expressos em porcentagem.

O cálculo da intensidade de infecção foi realizado por meio da técnica de estereologia proposta por Lowe et al. (1994), com o uso de graticula de Weibel. Para tal, foi calculada a área do tecido do hospedeiro ocupada pelo parasito em cinco campos do manto de cada animal parasitado. Os resultados foram analisados de acordo com o grau de infestação (Quadro 1).

Quadro 1. Níveis de intensidade de infestação por patógenos em moluscos bivalves

Grau de Infestação	Porcentagem %
I - infestação leve	= < 5%
II – moderada	5 - 25%;
III- alta	25 - 50%
IV - muito alta	> 50%.

Lowe et al., 1994

Para comparar altura média das ostras entre as estações secas e chuvosas foi utilizado o Teste-t student. Para verificar diferenças nas prevalências entre os meses, foram utilizados os testes Qui-Quadrado (χ^2) e Mann-Whitney, respectivamente, ao nível de significância de 95%, os resultados foram obtidos através do programa PAST.

4.3.4 Coleta e processamento da fauna associada aos animais cultivados

A fauna associada ao cultivo de ostras foi coletada manualmente na estrutura de cultivo durante as quatro amostragens. Quatro pontos sobre as armações nas extremidades da estrutura e quatro pontos centrais na parte superior da mesma foram utilizadas como área de amostragem. A retirada dos animais ocorreu em uma área de 20 centímetros de comprimento por 5 de largura. Depois de removidos da estrutura de cultivo os organismos foram inseridos em frascos de vidro de 1kg e anestesiados com cloreto de magnésio. Posteriormente foram fixados em formol a 5% e transportado ao Laboratório de Zoologia da Universidade Estadual do Maranhão.

No laboratório os animais foram lavados em água corrente em peneira, granulométrica de 0,5 mm de diâmetro, separados e acondicionados em potes plásticos. Após a triagem inicial os animais foram analisados em esteriomicroscópio da marca ZEISS Stemi DV4 para a identificação ao menor nível taxonômico possível, de acordo com Farrapeira (2008), Haimovici, Peres e Dos Santos, (1994); Gil et al., (2010) e Nunes e Mendonça (2013).

Foram realizadas análises de Diversidade através dos índices ecológicos de Shannon-Wiener (H') e Equitabilidade através do índice de Pielou(J'). Foram obtidos também os descritores numéricos de abundância densidade, riqueza e frequência. Os resultados ecológicos foram calculados com o auxílio do programa PAST. Para verificar possíveis diferenças na estrutura das comunidades existentes durante o período de estudo, foi aplicada Análise de Variância unifatorial (ANOVA), os resultados foram obtidos através do programa

PRIMER.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão expressos em forma de dois artigos: o primeiro será submetido ao Boletim do Instituto de Pesca e o segundo aos Anais da Academia Brasileira de Ciências, ambos com qualis B1 na área Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

5.1 CAPÍTULO I

MICROORGANISMOS E PATÓGENOS EM *Crassostrea gasar* CULTIVADA EM AMBIENTE ESTUARINO NO NORDESTE DO BRASIL*

MICROORGANISMS AND PATHOGENS IN *Crassostrea gasar* CULTIVATED IN AN ESTUARINE ENVIRONMENT IN NORTHEASTERN BRAZIL

Denise Carla da Silva MENDES¹, Derykeem Teixeira Amorim RODRIGUES²,
Camila Magalhães SILVA³, Tiago de Moraes LENZ⁴, Ícaro Gomes ANTONIO⁴

1-Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, denisemendess2@yahoo.com.br Cidade Universitária Paulo VI, s/n, Cidade Operária, São Luís, MA 65055-000, Brasil(Autor para correspondência).2- Curso de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, s/n, Cidade Operária, São Luís, MA 65055-000, Brasil, 3-Professor Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca Cidade Universitária Paulo VI, s/n, Cidade Operária, São Luís, MA 65055-000, Brasil, 4- Professor Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão.

RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar os aspectos microbiológicos por meio da pesquisa de *Vibrio* sp., Coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella* sp. e parasitos presentes na ostra *Crassostrea gasar* e na água de cultivo no município de Primeira Cruz, Maranhão. As coletas de água e ostra foram realizadas nos meses de novembro e dezembro de 2017 (período seco) e março e maio de 2018 (período chuvoso). O NMP de coliformes totais na ostra variou de <3,0 a 210 NMP/g. O NMP de coliformes termotolerantes na água de cultivo em todos os meses foi de <1,8 NMP/100 mL e nas as ostras variou de <3 a 23 NMP/g. Já as UFC de *Vibrio* sp. obtiveram mínimo de $2,6 \times 10^2$ e máximo de $3,5 \times 10^2$, já *Salmonella* sp. foi ausente em todas as amostras. Quanto aos patógenos foram identificados *Nematopsis* sp., *Bucephalus* sp., *Tylocephalum* sp., Bactérias *Rickettsia* sp. turbelários e metazoários não identificados. A prevalência total de patógenos nas ostras foi de (33,7%) e os parasitos mais prevalentes foram Metazoários e *Nematopsis* sp. (11,2%) com infecções variando de moderadas a leves. *Bucephalus* sp. foi prevalente apenas em novembro e foi mais comumente localizado nas gônadas e glândula digestiva. Quando em intensidade elevada a infecção provocou intensa ocupação das gônadas com

35 esporocistos e cercarias. As ostras e a água do ambiente apresentaram baixas populações
36 de coliformes, estando dentro dos limites estabelecidos pela legislação da ANVISA e
37 CONAMA, porém, ressalta-se a importância da criação de legislação que regulamente
38 níveis basais para outros grupos bacterianos causadores de gastroenterites envolvendo o
39 consumo de moluscos *in natura*. A prevalência de parasitos nos animais foi considerada
40 baixa e os patógenos presentes nos tecidos das ostras não causaram grandes danos ao
41 animal com exceção de *Bucephalus* sp. que é um potencial causador de castração
42 parasitária.

43

44 Palavras-chave: Bactérias; Aquicultura; Parasitas; sanidade em moluscos

45

46 **ABSTRACT**

47

48 The present work aimed to evaluate the microbiological aspects through the research of
49 *Vibrio* sp., Total coliforms and thermotolerantes, *Salmonella* sp. and parasites present in the
50 *Crassostrea gasar* oyster and the cultured water in the municipality of Primeira Cruz,
51 Maranhão. The water and oyster samples were collected in November and December of
52 2017 (dry period) and in March and May of 2018 (rainy season). The MPN of total
53 coliforms in the oyster ranged from <3.0 to 210 MPa / g. The MPN of thermotolerant
54 coliforms in the culture water at each month was <1.8 MPN / 100 mL and in the oysters
55 ranged from <3 to 23 MPN / g. The UFC of *Vibrio* sp. obtained a minimum of 2.6×10^2 and
56 a maximum of 3.5×10^2 , already *Salmonella* sp. was absent in all samples. As for the
57 pathogens were identified *Nematopsis* sp., *Bucephalus* sp., *Tylocephalum* sp., Bacteria
58 *Rickettsia* sp. unidentified turbellars and metazoa. The total prevalence of pathogens in
59 oysters was (33.7%) and the most prevalent parasites were Metazozaria and *Nematopsis* sp.
60 (11.2%) with infections varying from moderate to mild. *Bucephalus* sp. was prevalent only
61 in November and was most commonly located in the gonads and digestive gland. When
62 in high intensity the infection caused intense occupation of the gonads with sporocysts
63 and cercariae. Oysters and ambient water presented low populations of coliforms, being
64 within the limits established by the legislation of ANVISA and CONAMA, however, it is
65 important to create legislation that regulates basal levels for other bacterial groups that
66 cause gastroenteritis involving consumption of molluscs *in natura*. The prevalence of

67 parasites in the animals was considered low and the pathogens present in the oyster
68 tissues did not cause great damage to the animal except for *Bucephalus* sp. which is a
69 potential cause of parasitic castration.

70

71 Keywords: Bacteria; Aquaculture; Parasites; health in mollusks

72

73 INTRODUÇÃO

74

75 Entende-se por sanidade o conjunto de condições que conduzem ao bem-estar
76 e à saúde animal assim como sua higiene e salubridade. Ela possui uma estreita relação
77 com a saúde humana, pois está diretamente relacionada com a qualidade de animais
78 utilizados como alimento. No aspecto ambiental a sanidade proporciona aos animais
79 melhor qualidade de vida e o não acúmulo de doenças.

80 A qualidade ambiental é importante para a ostreicultura, pois, é possível
81 através dela, a minimização de possíveis doenças que acometem a produção. Dentre elas
82 destacam-se as infecciosas causadas por bactérias, protozoários, vírus e fungos (Ingham e
83 Schimdt, 2000; Zeidan et al., 2012).

84 As ostras são animais filtradores que se alimentam através do bombeamento de
85 água para seu interior. Uma ostra pode reter através do processo de filtração até 75% dos
86 microrganismos presentes no ambiente, caracterizando-a como um animal bioacumulador
87 (Zhang et al., 2015; Instituto Adolfo Lutz, 2004; Pontual et al., 2006).

88 A microbiota bacteriana que pode se acumular nas ostras e que pode ser
89 patogênica à saúde humana, destacam-se as bactérias naturalmente presentes no
90 ambiente, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae*,
91 *V. vulnificus*, e *Listeria monocytogenes* e bactérias intestinais da família Enterobacteriaceae
92 *Salmonella* sp., *Shigella* sp. e *Escherichia coli* (Jay, 2000). Esses grupos são objetos de
93 pesquisa em todo o mundo devido a sua ocorrência e patogenicidade (Zhang et al., 2015).

94 Além da qualidade ambiental, conhecer os organismos que parasitam estes
95 moluscos é uma ferramenta importante para auxiliar no manejo para aquicultura, pois
96 eles influenciam na sanidade do animal que será futuramente comercializado. Dentre os
97 parasitas mais conhecidos por acometer bivalves destacam-se as bactérias do gênero
98 *Rickettsia*, os protozoários *Ancistrocoma* sp., *Tylocephalum* sp., *Nematopsis* sp., *Sphenophrya*
99 sp., *Trichodina* sp., *Perkinsus* sp., *Steinhausia mytilovum*, *Urastoma* sp., os poliquetas *Polydora*

100 *websterie Neanthes succinea*, trematódeos digenéticos *Bucephalus* sp., copépode
101 *Pseudomyicola spinosus* e fungos não identificados (Scardua et al., 2017; Brandão et al.,
102 2013;Boehs, et al.,2012, Zeidan et al., 2012; Saby e Magalhães, 2005; Boehs et al., 2009).

103 Estudos que abordem a sanidade de ostras cultivadas, avaliando de forma
104 integrada através a presença e quantidade de microrganismos, são escassos no Brasil e
105 inexistentes no Maranhão. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar a
106 sanidade da área de cultivo em ambiente estuarino no município de Primeira Cruz,
107 Maranhão, Brasil, por meio da quantificação de bactérias presentes nos animais cultivados
108 e na água de cultivo, como também identificar e quantificar a presença de parasitos na
109 ostra *Crassostrea gasar* cultivada a fim de subsidiar a implementação comercial da
110 ostreicultura no estado do Maranhão.

111 **MATERIAIS E MÉTODOS**

112

113 As amostragens foram realizadas em cultivo experimental de ostras do tipo
114 cama fixa localizado em uma área estuarina (2°25'15,9"S 43°26'5,1" W) próxima ao
115 povoado Areinhas, no município de Primeira Cruz-MA (Figura 1). Nos meses de
116 novembro e dezembro de 2017 (período de estiagem) e março e maio de 2018 (período
117 chuvoso) amostras de água e ostra foram coletadas manualmente a baixa mar para
118 avaliação dos aspectos microbiológicos e parasitos associados. Paralelamente, foram
119 mensurados *in situ* os parâmetros abióticos (temperatura, salinidade e oxigênio
120 dissolvido), por meio de aparelho multiparâmetro da marca HANNA e refratômetro
121 óptico manual. A precipitação pluviométrica dos meses foi obtida junto ao Núcleo
122 Geoambiental da Universidade Estadual do Maranhão-UEMA.

123

124 **Coleta da água e das ostras**

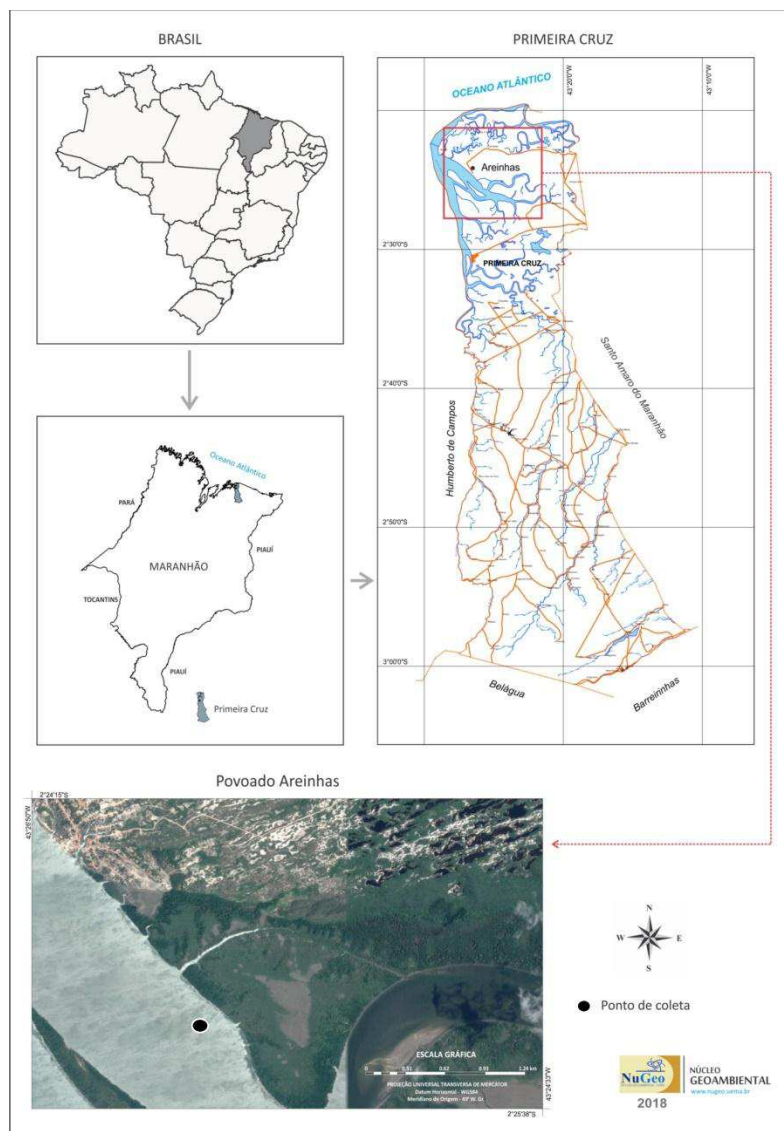
125

126 Foi coletado assepticamente em cada amostragem, 1L de água do ambiente em
127 garrafa âmbar e 30 exemplares de ostra do cultivo experimental totalizando 120
128 exemplares. O material foi armazenado em caixa isotérmica e transportado em um
129 período de até 24 horas ao laboratório de biologia molecular- LABWICK da Universidade
130 Estadual do Maranhão para a realização das análises microbiológicas.

131

132

133 Figura 1. Localização do cultivo experimental de ostras em Areinhas, Primeira Cruz, MA.



134

135 Fonte: Núcleo Geoambiental, NuGeo 2018

136

137 **Processamento e análise microbiológicas**

138

139 Em laboratório as ostras foram lavadas, secadas, abertas e posteriormente
140 evisceradas assepticamente. Em seguida as partes moles e o líquido intervalvar foram
141 retirados e pesados em balança de precisão. Para a realização da colimetria da água e das
142 ostras foram organizadas cinco séries de quatro tubos com 9 mL de meio de cultura
143 esterilizado enriquecido com Caldo Lauril Sulfato (Apha, 2012). Aliquotas de 1mL das
144 partes moles trituradas e de água foram transferidas para as séries de cinco tubos (10^{-1} , 10^{-2}

145 $2, 10^{-3}$ e 10^{-4} para amostras da água e 10^{-1} a 10^{-3} para ostra). Posteriormente estes passaram
146 por processo de incubação a $35^{\circ}\text{C}/48$ horas. Deste material foram retiradas alíquotas e
147 transferidas para tubos contendo Caldo EC e Verde Bile Brillhante (VBB) 2%. Os inóculos
148 em EC foram encubados a 45°C em banho-maria por 24 horas e os tubos contendo inóculo
149 em VBB foram encubados em estufa a 35°C por 24 horas. A positividade do teste foi
150 verificada pela turvação do meio e produção de gás. O cálculo do Número Mais Provável
151 (NMP) foi feito através da consulta à tabela do NMP de acordo com Bacteriological
152 Analytical Manual of the Division of Microbiology (BAM, 1998).

153 Para a realização da análise de *Vibrio* sp. nas ostras foram pesados 25 gramas de
154 amostra de carne junto com líquido intervalvar, trituradas e homogeneizadas em 225 mL
155 do diluente água peptonada APA por 30 minutos. A partir da diluição inicial 10^{-1} ,
156 preparou-se uma série de diluições decimais (10^{-2} até 10^{-4}). Após o período de incubação
157 foi verificada a positividade dos tubos (turvação) para a confirmação da presença de
158 *Vibrio* sp. Dos tubos positivos retiraram-se alíquotas de 0,2 mL de cada diluição e estas
159 foram espalhadas na superfície no meio Agar Tiosulfato-citrato-bile-sacarose (TCBS) com
160 alça de Drigalski pela técnica do spreadplate. As placas com crescimento de colônias
161 (sacaroses positivas e negativas) (Baron et al., 1994) foram contadas observando-se o
162 intervalo entre 25 a 250 colônias (Downes e Ito, 2001). A contagem padrão de placas CPP
163 em Unidade Formadora de Colônia por grama (UFC/g^{-1}).

164 Para a detecção da presença de *Salmonella* sp. foram macerados em triturador
165 25g de amostra de ostras e adicionadas a 225 mL de Caldo Lactosado Difco (CL-Difco) em
166 Erlenmeyer e em seguida incubado em estufa de crescimento por 24 horas, à temperatura
167 de 37°C . Decorrido este período, alíquotas de 0,1 mL e 1,0 mL foram retiradas do CL e
168 inoculadas em tubos contendo 10 mL de Caldo Rappaport (RV-Difco), Caldo Selenito e
169 incubados a 42°C e 43°C , respectivamente, por 24 horas em banho-maria.

170 A partir do crescimento microbiano em ambos os tubos, alíquotas de cada meio
171 foram retiradas e estriadas em placas de Petri contendo os meios seletivos de ágar
172 Hektoen (HE) e Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). As colônias que apresentaram
173 crescimento característico de *Salmonella* sp. (colônias enegrecidas) foram inoculadas em
174 ágar Ferro Açúcar Triplo (TSI-Difco) e em ágar Lisina Ferro (LIA - Difco) e incubadas a
175 37°C por 24 horas. A partir do crescimento positivo nos tubos (ácido na base e alcalino no
176 ápice para o meio ágar TSI, e alcalino, com ou sem produção de H_2S para o meio ágar

177 LIA). Os resultados foram expressos como presença ou ausência em 25g de amostra (FDA,
178 1992).

179

180 **Análise de parasitos**

181

182 Para a realização da análise microscópica de parasitos no tecido das ostras
183 cultivadas, foram coletados 20 exemplares da ostra em cada amostragem totalizando 80
184 exemplares. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Fisiocologia, Reprodução
185 e Cultivo de organismos Marinhos - FISIOMAR da Universidade Estadual do Maranhão,
186 onde foi realizada a medidas de altura das conchas com o auxílio de paquímetro manual, e
187 posteriormente a evisceração através de secções transversais. Amostraram-se as brânquias,
188 manto, glândula digestiva e gônadas, segundo descrito por Howard e Smith (1983). Os
189 tecidos foram fixados em solução de Davidson salino por aproximadamente 24 horas e
190 posteriormente armazenados em frascos contendo álcool a 70%. Em laboratório as amostras
191 foram submetidas à desidratação em séries de álcool crescente, diafanização em xileno,
192 clarificação e inclusão em parafina. Os blocos confeccionados foram cortados a 5 µm em
193 micrótomo da marca ANCAP. As secções resultantes foram inseridas em lâminas, coradas em
194 Hematoxilina de Harris e Eosina (HE) e feita a montagem com lamínula com meio sintético
195 Entellan®. A leitura das lâminas foi realizada com uso de microscópio óptico. Através das
196 lâminas foram realizadas a identificação, quantificação do número de parasitas e seu local de
197 prevalência no animal, além da intensidade de infestação. A prevalência de infecção foi
198 calculada em função do número de animais infectados pelo número de animais analisados
199 de acordo com Bush et al. (1997), e os resultados expressos em porcentagem.

200 O cálculo da intensidade de infecção foi realizado através da técnica de
201 estereologia proposta por Lowe et al., (1994), com o uso de grátícula de Weibel. Para tal, foi
202 calculada a área do tecido do parasito em cinco campos do manto de cada animal parasitado.
203 Os resultados foram analisados de acordo com a classificação de Lowe et al. (1994) : I -
204 infestação leve = < 5% de TP; II - moderada = 5 - 25%; III - alta = 25 - 50% e IV - muito alta =
205 > 50%.

206

207

208

RESULTADOS

209

210

Variáveis abióticas

211

212

213

214

215

A temperatura da água do cultivo variou de 30 °C a 31 °C, a salinidade de 24 a 40 e a precipitação de 40 mm³ a 303,8 mm³. Já os valores para oxigênio dissolvido variaram de 5,3 a 5,7 mg/L (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis abióticas da água de cultivo nos meses de amostragem da estação seca e chuvosa

Estação	Mês/ano	Temperatura °C	Salinidade	Oxigênio mg/L	Precipitação mm ³
Seca	Novembro/17	30	40	5,7	40
	Dezembro/17	30	40	5,7	57,6
Chuvosa	Março/18	31	30	5,3	--
	Maio/18	30	24	5,3	303,8

216

(--) Não aferido

217

Microbiologia da água e das ostras

218

219

220

221

222

223

Os resultados do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes da água do cultivo foram semelhantes em todos os meses amostrados (<1,8/100 mL). As ostras apresentaram NMP de coliformes totais (CT) entre <3.0/g a 210/g e termotolerantes (Ct) com variação de <3.0/ g a 23/ g e, os maiores resultados para CT e Ct foram registrados no mês de novembro.

224

225

226

227

228

As UFC de *Vibrio* sp. foram superiores a 2.600 UFC/g (Tabela 2). Grande parte das colônias que apresentaram crescimento no ágar TCBS foram fermentadores de sacarose e apresentaram colônias lisas, opacas e com bordas amarelas finas. Os resultados demonstraram ausência de *Salmonella* sp. nas amostras de ostra em todos os meses do estudo.

229

Variáveis biométricas

230

231

232

Novembro foi o mês que obteve maior média de altura (57,2 ± 9,7) mm, e a menor foi registrada em março (35,1± 6,5) (Figura 2). Utilizando o Teste-t student para

233 comparar altura média das ostras entre as estações secas e chuvosas, este evidenciou
234 diferença significativa para esta variável ($p < 0,05$).

235

236 Tabela 2. Quantificação de Coliformes Termotolerantes e Totais, *Vibrio* sp. em amostras de ostras
237 cultivadas em Primeira Cruz-MA

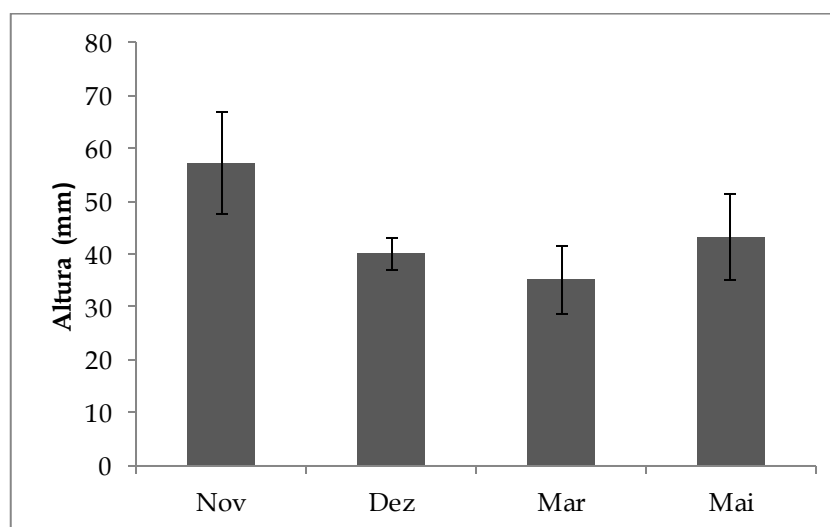
Estação	Mês/ano	Coliformes Termotolerantes	Coliformes Totais	<i>Vibrio</i> sp.
		(NMP/g)	(NMP/g)	(UFC/g)
Seca	Novembro/2017	23	210	$3,5 \times 10^3$
	Dezembro/2017	<3.0	15	$3,5 \times 10^3$
Chuvosa	Março/2018	<3.0	14	$2,6 \times 10^3$
	Maio/2018	<3.0	<3.0	$2,6 \times 10^3$

238 *Valor máximo de Coliformes totais permitidos pela legislação ANVISA 12/2001 =1000 coliformes/g

239

240

241 Figura 2. Média e desvio padrão da altura de *C.gasar* coletada no município de Primeira Cruz-MA



242

243

244 Identificação e quantificação de parasitos

245

246 As análises microscópicas revelaram a presença de bactérias, protozoários e
247 metazoários. Foram identificadas bactérias do gênero *Rickettsia*, protozoários *Nematopsis*
248 sp (Apicomplexa: Eugregarinida: Porosporidae), trematódeos *Bucephalus* sp. (Digenea:
249 Bucephalidae), turbelários não identificados, *Tylocephalum* sp. (Cestoda:

250 Tetragonocephalidae) e metazoários não identificados. A prevalência de indivíduos
 251 parasitados foi de 33,7 %.

252 Os metazoários foram um dos parasitos mais prevalentes estando localizados
 253 no manto, glândula digestiva, gônadas, tecido conjuntivo e brânquias. Dentre eles, o
 254 manto e tecido conjuntivo foram os tecidos que mais obtiveram a presença dos parasitos.
 255 Maio e março foram os meses de maior ocorrência de metazoários nas ostras (Tabela 3) A
 256 intensidade da infecção leve (L<5%) foi predominante ocorrendo em 80% dos indivíduos
 257 com o parasito (Figura 3). O teste de Mann-Whitney, ao nível de significância de 95% não
 258 evidenciou diferença significativa entre o número de animais infectados e não infectados
 259 por parasitos durante o período amostral (p>0,05).

260

261

262 Tabela 3. Prevalência mensal e total (%) de parasitos em *C. gasar* nos meses das estações seca e
 263 chuvosa (n total=80 e n mensal=20)

	Ntps	Bucp	RLOs	MNI	Turb	Tyl	VNI
Novembro	30	40	10	10	-	-	-
Dezembro	10	-	-	-	-	-	-
Março	-	-	5	10	5	-	-
Maio	5	-	5	25	5	5	10
PT	11,2	10	5	11,2	2,5	1,25	2,5

264 Ntps = *Nematopsis* sp.; Bucp = *Bucephalus* sp.; RLOs = *Rickettsia* sp.; MNI = Metazoário não identificado; Turb
 265 = Turbellaria não identificado ; Tyl = *Tylocephalum* sp.; VNI = Verme não identificado; PT = prevalência total.

266

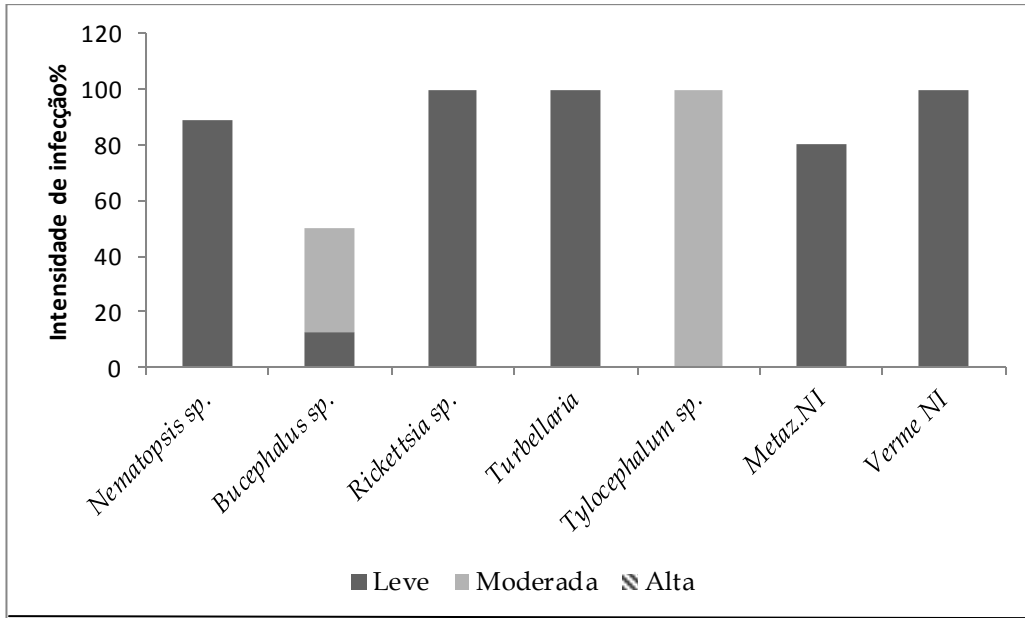
267 Nesse grupo foram identificados Turbelários não identificados que ocorreram
 268 no mês de março e maio (Tabela 3), provocando aparente infiltração de hemócitos no local
 269 de infecção, porém em baixa intensidade (Figura 4 A), os organismos acometidos por esse
 270 patógeno obtiveram infecção leve em 100% dos casos. *Tylocephalum* sp. foi localizado no
 271 tecido conjuntivo apresentando espessa capsula fibrosa. Não foi observada infiltração
 272 hemocitária ao redor do metacestoide (Figura 4 B) e a intensidade de infecção moderada
 273 foi dominante para esse parasito (Figura 3).

274 No lúmen do trato digestivo de dois indivíduos foi encontrado um verme não
 275 identificado que não provocou nenhuma resposta de defesa aparente do hospedeiro
 276 (Figura 4 C).

277

278
279
280
281

Figura 3. Percentual de intensidade de infecção em *C.gasar* cultivada em Primeira Cruz-MA

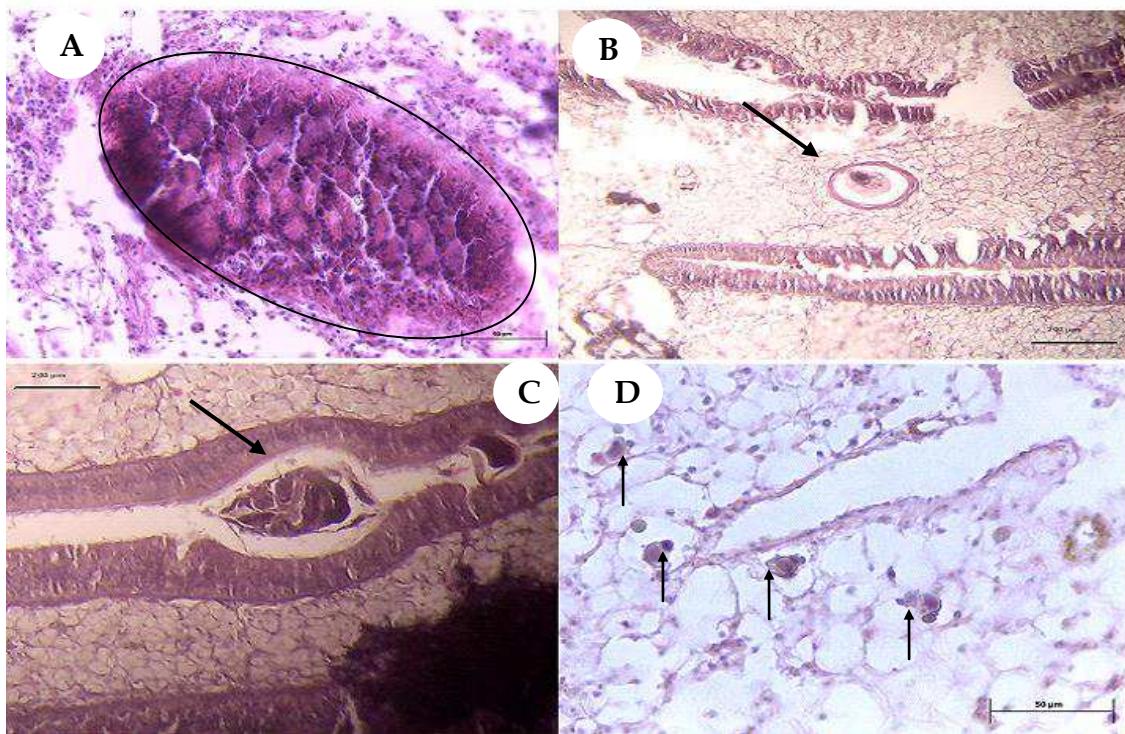


282
283

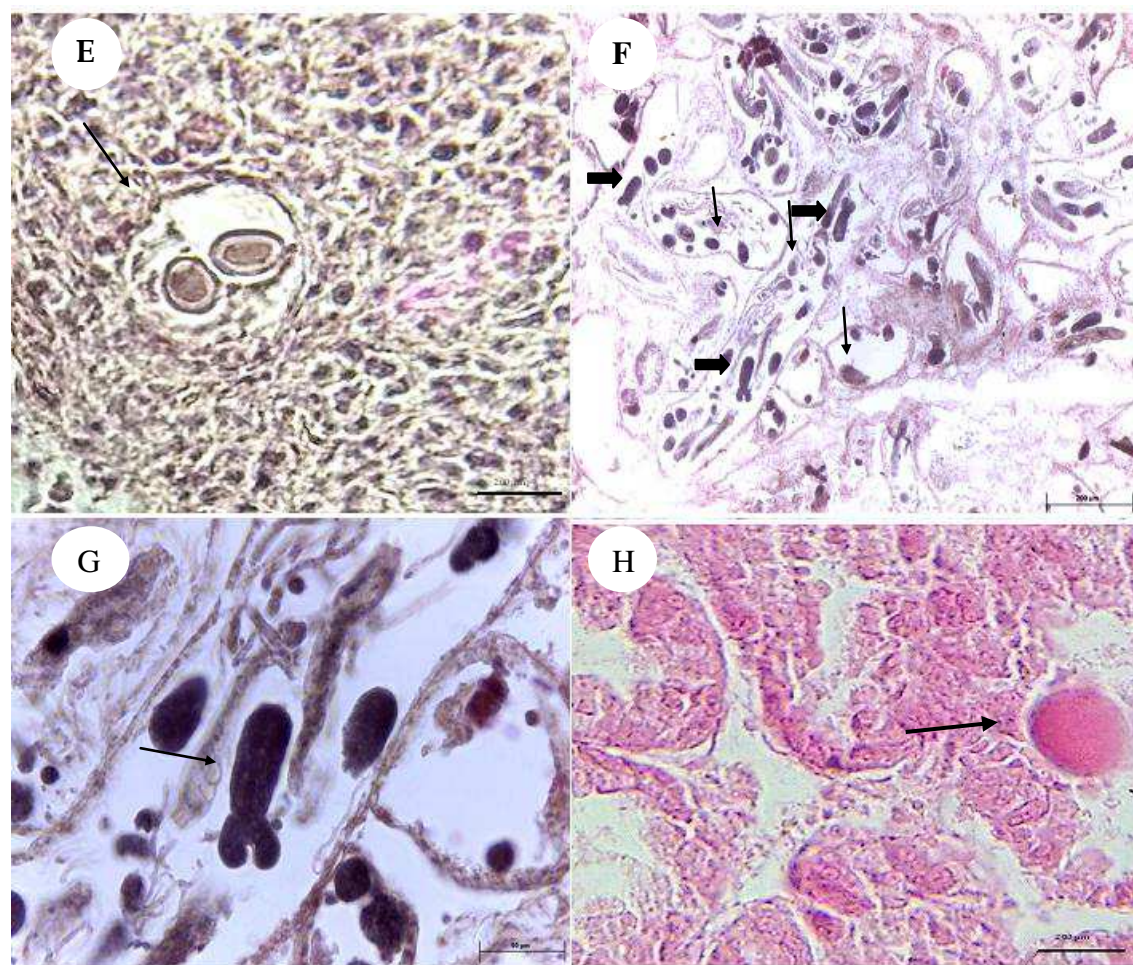
284 *Nematopsis* sp. foi registrado em maior quantidade em novembro (Tabela 3). O
285 número de oocistos por fagócito variou de 1 a 2 oocistos/ fagócito e foram observados na
286 glândula digestiva, manto, tecido conjuntivo, gônadas, brânquias e palpos labiais (Figura
287 4 D- E). Dentre esses, a glândula digestiva foi o tecido de maior ocorrência do protozoário.
288 A intensidade de infestação predominante foi a leve em 88,8 % dos casos, devido à baixa
289 quantidade de fagócitos nos tecidos analisados.

290 Foram observados esporocistos em massas germinativas e cercarias do
291 trematódeo digenético *Bucephalus* sp., com a cauda bífida com uma base muito curta e
292 larga (Figuras 4 F e G). Os parasitos foram registrados apenas no mês de novembro e a
293 maior ocorrência desse parasito foi nas gônadas e glândula digestiva (Figura 4F). Já a
294 intensidade de infecção foi alta em 50% dos animais infectados. Os indivíduos parasitados
295 em alta intensidade apresentaram ocupação intensa dos folículos gonadais por
296 esporocistos e cercarias.

297 Figura 4. Parasitos em *C. gasar* cultivada em ambiente estuarino no município de Primeira Cruz,
298 Maranhão, Brasil. A. Turbelário não identificado no tecido conjuntivo (círculo), com infiltração dos
299 hemócitos evidente. Barra= 50µm. B. *Tylocephalum* sp. no tecido conjuntivo (seta). C. Verme não
300 identificado no lúmen digestivo (seta), barra=200 µm. D. *Nematopsis* sp. (setas) no tecido
301 conjuntivo. E. Oocistos de *Nematopsis* sp. Barra= 200 µm. F. Esporocistos (setas finas), e cercarias
302 (setas largas) de *Bucephalus* sp., na glândula digestiva. Barra= 200 µm. G. Cercaria de *Bucephalus* sp.
303 (seta) na glândula digestiva. Barr=50µm. H. Colônia de *Rickettsia* sp. na glândula digestiva (setas).
304 Barra=200 µm.



305



306

307

308 Colônias de bactérias de *Rickettsia* sp. (RLOs), foram encontradas no manto,
309 palpos labiais e glândula digestiva (Figura 4 H). Apresentaram baixa prevalência,
310 ocorrendo nos meses de novembro, março e maio. Não foram observados danos teciduais
311 devido à presença bacteriana. A intensidade de infecção foi classificada leve em 100% dos
312 indivíduos infectados.

313

314

315 DISCUSSÃO

316 Condições ambientais são fatores determinantes no crescimento e sobrevivência
317 das ostras, para organismos cultiváveis, as mais importantes são temperatura e salinidade
318 (Paterson et al., 2003, Alvarenga e Nalesso, 2006, Funo et al., 2015).

319 Os corpos aquáticos podem ser considerados salobros quando a salinidade está
320 dentro de um intervalo de 5 a 30 e salinos quando esta se encontra maior que 30. Assim
321 estuário do presente trabalho onde as ostras foram cultivadas caracteriza-se como salobro
322 (Brasil, 2005).

323 No litoral do Maranhão, especificamente nos municípios de Icatu, Primeira Cruz e
324 Humberto de Campos, a salinidade da água do mar varia entre 5 a 37, nesta região onde
325 existe a ocorrência de bancos naturais de ostra nativa (*C. gasar* e *C. rhizophorae*) é mais
326 frequente a oscilação de salinidade entre 10 e 30 ao longo do ano (Funo et al., 2015).
327 Porém, no presente trabalho foi observado que essa variável da água obteve valores mais
328 elevados na estação seca (40) contrastando o observado pela autora. A salinidade do
329 estuário estudado obteve decréscimo nos meses considerados chuvosos e valores mais
330 elevados nos meses considerados de estiagem o que é frequentemente observado na
331 região devido a influencia da água doce que vem dos rios para o estuário nesse período
332 (Vilanova e Chaves, 1988).

333 A temperatura da água do ambiente estudado não sofreu altas variações, porém, é
334 considerada elevada, corroborando com as características dos ambientes estuarinos da
335 costa nordestina, onde as temperaturas são altas e sofrem poucas oscilações durante o ano
336 (Silva et al., 2003; Martins et al., 2009).

337 Para as análises microbiológicas das ostras os resultados foram comparadas
338 com a resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária-1 ANVISA de 2001 na
339 categoria “moluscos bivalves, carne de siri e similares cozidos, temperados e não,
340 industrializados resfriados ou congelados” (BRASIL, 2001), pois, não existe limite mínimo

341 de bactérias na referida resolução para moluscos consumidos crus, fator este que limita a
342 avaliação microbiológica desse alimento que na maioria das vezes é consumido cru.

343 A densidade de coliformes termotolerantes nas amostras de ostra obteve
344 valores considerados baixos em todos os meses estudados (Número mais provável NMP
345 <24) indicando que os moluscos analisados se encontravam próprios para o consumo,
346 pois, a densidade de coliformes encontrou-se dentro do estipulado pela ANVISA
347 (coliformes NMP<1000/100 mL). Os resultados foram semelhantes aos de Doi et al.
348 (2015); Sande et al. (2010); Vieira et al. (2008) em estuários de crescimento e cultivo de
349 ostras, nas costas do estado da Bahia e São Paulo. No estado do Maranhão Ribeiro et al.
350 (2016) encontraram valores baixos de coliformes nas ostras (NMP <6) em estuários da ilha
351 de São Luís.

352 O número mais provável de coliformes presentes na água do ambiente indicou
353 baixas densidades de coliformes (NMP<1,8) nas quatro amostras, estando assim em
354 conformidade com a resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA nº
355 357 que estabelece valor máximo para o cultivo de moluscos bivalves destinados à
356 alimentação humana, de 43 coliformes por 100 mililitros (Brasil, 2005). Desta forma, os
357 resultados sugerem a área como propícia para o cultivo de ostras, já que a faixa de
358 concentração de coliformes indica baixa contaminação por esgoto doméstico (Ballesteros
359 et al.,2016).

360 Os resultados das análises microbiológicas deve-se provavelmente à baixa
361 ocupação demográfica e inexistência de atividades de grande impacto nas margens do
362 estuário próximo às áreas de cultivo das ostras, sugerindo baixa concentração das
363 bactérias analisadas na área de cultivo. Resultados semelhantes foram observados por Doi
364 et al. (2015) com *Crassostrea sp.* em Cananéia São Paulo, Freitas et al., (2017) na Baía do
365 Iguape estado da Bahia e Vieira et al. (2008) no estado do Ceará, associando as baixas
366 densidade de bactérias às baixas atividades de despejo de efluentes na água.

367 A baixa quantidade de coliformes encontrada tanto na água onde as ostras
368 foram cultivadas quanto em seus tecidos também pode ser justificada pela alta salinidade
369 da água (chegando a 40) que é relatada como fator limitante a multiplicação microbiana.
370 (Vieira et al., 2001; Vieira et al., 2008). Apesar de haver ocorrido um decréscimo de
371 salinidade nos meses da estação chuvosa, este fator não influenciou no aumento do
372 número de coliformes.

373 Já as densidades de UFC *Vibrio* presentes nas amostras de ostras estiveram em
374 um intervalo de $2,6 \times 10^3$ a $3,5 \times 10^3$ UFC/g, os presentes resultados se assemelham com os
375 de Viera et al. (2007) que encontraram de 330 a 16.000 colônias em amostras de carne de *C.*
376 *rhizophorae* no estado do Ceará. No entanto, não existe no Brasil legislação que
377 regulamente níveis toleráveis *Vibrio* em moluscos destinados a alimentação e nem em
378 águas utilizadas para a aquicultura, dificultando assim as comparações para o gênero em
379 bivalves.

380 Os maiores valores de UFC foram encontrados nos meses de estiagem onde as
381 chuvas foram em menores quantidades e a temperatura e salinidade foram mais elevadas.
382 West (1989), afirma que este grupo bacteriano pode aparecer em grandes concentrações
383 quando as temperaturas das águas aumentam, no entanto, estão presentes na água
384 durante todo o ano, mas, sua concentração aumenta nos meses mais quentes,
385 proporcionando sua acumulação nos moluscos filtradores e em outros animais aquáticos
386 (Tall et al., 2013).

387 As colônias sacarose positiva (amarelas e opacas) observadas no presente
388 estudo são características das espécies (*V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. hareyi*, *V.*
389 *cincinnatiensis*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*, e alguns *V. vulnificus*) e as colônias
390 sacarose negativas (esverdeadas) encontradas em baixa quantidade são indicativas de
391 *Vibrio parahaemolyticus* (Baron et al., 1994). Dentre essas no Brasil estão presentes as
392 espécies *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio alginolyticus* e *Vibrio vulnificus*, que
393 são isoladas partir de alimentos de origem marinha e estuarina (Rodrigues et al., 2001;
394 Vieira et al., 2004; Pereira et al., 2004; Pereira et al., 2007).

395 No estudo em questão foi realizada apenas uma análise quantitativa através da
396 contagem padrão de placas não chegando a identificação específica. No entanto, ressalta-
397 se a importância de mais estudos voltados ao isolamento específico das bactérias do
398 gênero em alimentos de origem estuarina cultivados no estado do Maranhão, já que esse
399 grupo pode ser responsável por episódios de gastroenterites e outras infecções sendo seu
400 monitoramento de importância para a aquicultura (Su e Liu, 2007).

401 A legislação ANVISA não conta com regulamentação específica de limites
402 toleráveis para *Salmonella* em moluscos bivalves consumidos *in natura*. Porém,
403 regulamenta a categoria moluscos bivalves, carne de siri e similares cozidos, temperados e
404 não industrializados resfriados ou congelados" (BRASIL, 2001) e nela a bactéria deve estar
405 ausente em 25g. Assim, tentando aproximar-se desta legislação com os presentes

406 resultados, podemos inferir que as ostras apresentam adequadas para o consumo
407 humano.

408 O gênero *Salmonella sp.* foi ausente na carne das ostras analisadas. Em estuários
409 de cultivo da ostra *Crassostrea gigas* em Florianópolis Santa Catarina, também se constatou
410 a ausência de tal bactéria entérica (Pereira et al., 2006). No entanto, este cenário não foi
411 observado em outros ambientes naturais de crescimento e cultivo de ostras pelo Brasil
412 (Silva et al., 2003; Vieira et al., 2004; Santos et al., 2015; Ballesteros et al., 2016).

413 Desse modo, do ponto de vista microbiológico, os resultados demonstram que o
414 ambiente avaliado em Primeira Cruz - MA, se encontrou-se propício ao cultivo de ostras.
415 A baixa carga microbiana encontrada tanto na água quanto nas ostras, pode estar
416 relacionada a alta salinidade encontrada nesse estuário e à distância do cultivo em relação
417 aos aglomerados urbanos, Já que esses são causadores de contaminação e impactos nos
418 corpos hídricos (Lewis et al., 2011; Bayen, 2012).

419 Complementando os aspectos sanitários, os resultados das análises de parasitos
420 demonstraram que metazoários foram um dos mais prevalentes nas ostras (11,2%). Além
421 disso, foi observada infiltração de hemócitos ao redor de alguns parasitos, como resposta
422 de defesa. Sabry et al. (2011) observaram um metazoário não identificado causando danos
423 na glândula digestiva em *C. gigas* e forte infiltração hemocitária, como reação de defesa ao
424 parasito, no entanto, nem sempre pode-se observar danos causados por metazoários a
425 seus hospedeiros.

426 O metazoário *Tylocephalum sp.* em estágio larval foi observado em baixa
427 prevalência e com um leve a moderado grau de infestação. Cova et al. (2015), Brandão et
428 al. (2013) e Sabry et al. (2007) observaram situação semelhante em *C. rhizophorae*. A
429 parasitose com o grau de infestação observado não pareceu causar danos à órgãos vitais
430 do hospedeiro. A formação da capsula que envolve o parasito constitui uma reação de
431 defesa ao parasito e é relatada em outras espécies de moluscos bivalves tais como
432 *Anomalocardia brasiliana*, *Iphigenia brasiliana*, *Crassostrea gigas* e *Mytella guyanensis* (Sabry e
433 Magalhães, 2005; Boehs et al., 2010; Ceuta e Boehs, 2012). Esta relação parasito-hospedeiro
434 não é registrada como causadora de morte nos moluscos.

435 Turbelários foram registrados em baixa prevalência (2,5%) tendo como sítio
436 preferencial de ocorrência o tecido conjuntivo. Observou-se infiltração de hemócitos ao
437 redor do parasito como resposta de defesa. Resultados semelhantes foram obtidos por
438 Ceuta e Boehs (2012) que observaram um turbelário não identificado nas brânquias de

439 *Mytella guyanensis*, por Zeidan et al. (2012), Brandão et al. (2013) e Cova et al. (2015) que
440 observaram o Turbelário *Urastoma* sp. nas brânquias e manto de *C. rhizophorae*.

441 Organismos do grupo Turbellaria são encontrados no manto, brânquias e na
442 cavidade digestiva de moluscos bivalves. Esses animais são conhecidos por não causar
443 danos significativos em graus baixos de infestação (Lauckner, 1983; Bower, 1992;
444 Francisco et al., 2010).

445 O grupo das gregarinas do gênero *Nematopsis* sp. foram observados em maiores
446 prevalências nos meses correspondes à estação seca (30 e 10%). Apesar disso a intensidade
447 de infecção foi considerada leve e não causou alterações morfológicas nos tecidos
448 acometidos e nem resposta de defesa evidentes; comum para esse grau de infecção
449 (Bower, 1994; Sabry et al, 2007; Boehs et al., 2010; Sabry et al., 2011;).

450 As prevalências observadas nos presentes resultados foram inferiores as
451 registradas em *Crassostrea rhizophorae* no estado da Bahia (80% a 100%) (Zeidan et al.,
452 2012), (20% a 100%) (Brandão et al., 2013) e (97,8%) (Cova et al., 2015). Em *C. rhizophorae*
453 cultivada em Florianópolis, Santa Catarina com (10% a 70%) (Sabry e Magalhães, 2005) e
454 no estado do Ceará (60% a 100%) (Sabry et al., 2007).

455 A maior ocorrência de *Nematopsis* sp. no mês de novembro foi relacionada com
456 o tamanho dos animais. Nesse mês foi registrada a maior média de altura (57,2 mm)
457 corroborando com resultados de Sabry e Magalhães (2005), que obtiveram relação
458 semelhante em *Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas* com altas infecções por
459 *Nematopsis* sp. em ostras de tamanhos entre 55 mm e 117 mm de altura. Azevedo e
460 Cachola (1992) também observaram que o molusco *Cerastoderma edule* da região sul de
461 Portugal, obteve ocorrência de parasitos de 82%, nos animais de maiores tamanhos.

462 Outra possível causa de maiores quantidades de indivíduos com *Nematopsis* foi
463 a presença de crustáceos Cirripedia e Decapodas próximos às ostras. O ciclo de vida do
464 parasito utiliza moluscos como hospedeiros intermediários e artrópodes marinhos como
465 definitivos (Bower et al.,1994; Boehs et., 2009).

466 A maior prevalência do trematódeo *Bucephalus* sp. foi observada no mês de
467 novembro (estação seca) 40%, esse parasito foi o de maior prevalência mensal dentre
468 todos os encontrados. Essa alta prevalência foi relacionada aos animais com maiores
469 tamanhos de concha. Essa característica foi considerada um fator de influência na infecção
470 das ostras, pois, o início da parasitose pode estar relacionado ao tamanho do indivíduo.
471 Animais com menos de 30 mm de comprimento da concha não são parasitados, animais

472 com 30 a 40 mm são parasitados, animais com 60 a 70 mm apresentam parasitismo intenso
473 e os com mais de 70 mm, apresentam parasitismo decrescente (Magalhães, 1998).

474 Nos folículos gonadais foram observados esporocistos e cercarias que
475 ocuparam grandes áreas dificultando a determinação do sexo, e podendo causar
476 impedimento da realização da gametogênese (Lauckner, 1983). Alta concentração de
477 esporocitos e cercarias também foram causadoras de infecção nas gônadas e destruição de
478 folículos gonadais em *C.rhizophorae* (Zeidan et al., 2012; Brandão et al., 2013). Estudos de
479 *Bucephalus* em bivalves na costa brasileira, confirmaram a impossibilidade de
480 indeterminação do sexo, quando em altas intensidades (Garcia e Magalhães, 2008; Boehs,
481 2010; Ceuta e Boehs, 2012; Ribeiro et al., 2018).

482 Os bucefalídeos tem um ciclo de vida complexo, usando moluscos bivalves
483 como hospedeiros intermediários e alguns peixes ósseos como hospedeiros definitivos
484 (Lauckner, 1983). Esses trematódeos são assim chamados devido a sua cauda bifurcada
485 com uma base muito curta e larga durante a fase de cercaria (Wardle, 1990). Quando as
486 cercarias se tornam maduras, rompem os tecidos e saem à procura do segundo
487 hospedeiro intermediário, podendo causar a morte do primeiro hospedeiro, sendo então
488 considerado um parasita de importância para a aquicultura (Lauckner, 1983; Magalhães,
489 1998).

490 No entanto, apesar do comprometimento que estes parasitos causam aos
491 hospedeiros, a prevalência encontrada neste estudo pareceu não influenciar no
492 desenvolvimento da população de ostras cultivadas.

493 O percentual de bactérias *Rickettsia* sp. foi baixo em todo o período de
494 amostragem (5%) e o grau de infecção foi leve em todo o estudo. Não foram observadas
495 lesões severas nos tecidos das ostras. Em um grau baixo de infestação, esse parasito não
496 afeta a fisiologia do hospedeiro e não ocasiona danos severos aos tecidos (Cremonte et al.,
497 2005).

498 O presente resultado corrobora com os de Sabry et al. (2011); Zeidan et al. (2012)
499 e Boehs et al. (2010), que destacam que *Rickettsia* sp. não causa lesões importantes no
500 hospedeiro em baixas infecções e com os de Figueras et al. (1991) e Carballal et al. (2001)
501 que descrevem essas bactérias como não causadoras de resposta de defesa. Assim esse
502 microrganismo pode ser caracterizado como pouco danoso aos animais.

503 Os resultados observados no presente estudo demonstram que a prevalência de
504 parasitos nas ostras foi baixa e que apesar de serem possivelmente prejudiciais aos

505 animais cultivados não houve comprometimento da população pelas parasitoses. E em
506 alguns casos as relações parasita/hospedeiro, não foram responsáveis por danos severos
507 aos organismos. Portanto, o ambiente de cultivo em Primeira Cruz Maranhão se mostra
508 propício para essa atividade visto que as ostras cultivadas não passaram por grandes
509 pressões de endoparasitas.

510 **CONSIDERAÇÕES**

511

512 O ambiente de cultivo de *C.gasar* em Primeira Cruz, Maranhão apresentou-se
513 favorável à ostreicultura apresentando populações de bactérias entéricas não elevadas.
514 As ostras cultivadas como consequência foram consideradas próprias ao consumo
515 humano. O Brasil não conta com legislação que estipule limites para bactérias entéricas
516 em moluscos consumidos crus, o que pode ser considerado um problema em potencial
517 para a ostreicultura e que pode afetar a saúde humana.

518 As ostras cultivadas não foram seriamente afetadas pela presença de patógenos,
519 uma vez que a prevalência dos parasitos foi baixa. Apesar dos metazoários e *Nematopsis*
520 sp. serem os mais encontrados nas ostras, a intensidade de infecção foi baixa e o único
521 patógeno possivelmente danoso a sanidade das ostras é *Bucephalus* sp., devido a seu
522 potencial de causar danos reprodutivos no hospedeiro.

523 Desta forma evidencia-se neste estudo a importância de pesquisas que
524 envolvem análises de microrganismos e parasitas presentes em animais cultivados e em
525 seu ambiente, no estado do Maranhão, pois possibilita o diagnóstico de danos à produção
526 e ao consumidor. Recomenda-se o aprofundamento de estudos nas áreas de microbiologia
527 e patologia de bivalves em cultivos a fim de obter subsídios ao desenvolvimento da
528 ostreicultura com produtos de qualidade nas áreas estuarinas do estado do Maranhão.

529 **AGRADECIMENTOS**

530

531 Agradecemos a CAPES, Universidade Estadual do Maranhão, Programa de Pós
532 Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Laboratório de Fisiocologia, reprodução e
533 cultivo de organismos marinhos - FISIOMAR, Universidade Estadual do Maranhão, A
534 Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Maranhão - FAPEMA, pelo financiamento
535 da pesquisa e a todos que colaboraram para a execução do trabalho.

536

REFERÊNCIAS

- 537
538
539
540 Alvarenga, L.; Nalesso, R. C. 2006. Preliminary assessment of the potential for mangrove
541 oyster cultivation in Piraquê- Açú River estuary (Aracruz, ES). Brazilian Archive of
542 Biology and Technology. (49), 1, p. 163-169.
- 543 APHA, American Public Health Association. 2012. Standard Methods for the Examination
544 of Water and Wastewater. APH, AWWA, WEF. 22nd Edition. 1120p.
- 545 Azevedo, C.; Cachola, R. 1992. Fine structure of the Apicomplexa oocyst of *Nematopsis* sp.
546 of two marine bivalve molluscs. Diseases of Aquatic Organisms (14) 1, p. 69-73.
547 <http://dx.doi.org/10.3354/dao014069>
- 548 Ballesteros, E. R.; Andrade, V. C.; 2; Edison Barbieri, E. B.; Pinto, A. B.; Oliveira, R. S.;
549 Oliveira, A.J. F. C. 2016. Qualidade Microbiológica de Ostras (*Crassostrea* sp.) e de Águas
550 coletadas em cultivos e em bancos naturais de Cananéia SP. Boletim do Instituto de Pesca,
551 São Paulo, 42(1): 134-144.
- 552 Bam-Bacteriological Analytical Manual. 1998. 8th Edition. Disponível em
553 <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm#intro>
554 > Acessado em 29/08/2018.
- 555 Baron, E. J., L. R. Peterson, e S. M. Finegold. 1994. *Vibrio* and related species, *Aeromonas*,
556 *Plesiomonas*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, and others, p. 429-444. Bailey & Scott's diagnostic
557 microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.
- 558 Bayen, S. 2012. Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metals and organic
559 contaminants in mangrove ecosystems: a review. Environmental. Int. (48), p. 84-101.
- 560 Boehs, G.; Magalhães, A. R.M.; Sabry, R. C.; Ceuta, L. O. 2012. Parasitos e patologias em
561 bivalves marinhos de importância econômica da costa brasileira. In: S. de S, A.T.; Lizama,
562 M.L.A.; Takemoto, R. Patologia e sanidade de organismos aquáticos. Maringá:
563 ABRAPOA. p. 165-194.
- 564 Boehs, G.; Villalba, A.; Ceuta, L. O.; Luz, Jr. 2010. Parasites of three commercially
565 exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira River (Ilhéus,
566 Bahia, Brazil). Journal of Invertebrate Pathology, (103), p. 43-47.
567 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2009.10.008>

568 Boehs, G.; Lenz, T. M.; Villalba, A. 2009. Xenomas in *Crassostrea rhizophorae* (Ostreidae)
569 from Camamu Bay, Bahia, Brazil. Brazilian Journal of Biology, (69), 2, p. 457-458.

570 Bower, S. M.; Mcgladder, S.; E.; Price, I. M. 1994. Synopsis of Infectious Diseases and
571 Parasites of Commercially Exploited Shellfish. Annual Review of Fish Diseases, (4), p. 1-
572 199. [http://dx.doi.org/10.1016/0959-8030\(94\)90028-0](http://dx.doi.org/10.1016/0959-8030(94)90028-0)

573 Bower, SM., 1992. Diseases and parasites of mussels. In Gosling, E. (Ed.). Developments in
574 Aquaculture and Fisheries Science: the mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and
575 Culture. Amsterdam: Elsevier. (25), p. 543-563.

576 Brandão, R. P.; Boehs, G.; Silva, P. M. 2013. Health assessment of the oyster *Crassostrea*
577 *rhizophorae* on the southern coast of Bahia, northeastern Brazil. Revista Brasileira de
578 Parasitologia Veterinária (22), 1, p. 84-91. [http://dx.doi.org/10.1590/S1984-](http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612013005000007)
579 [29612013005000007](http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612013005000007)

580 Brasil-Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Resolução nº 357 de 17 de março
581 de 2005. Dispõe sobre a qualidade dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu
582 enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamentos de efluentes
583 e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 17 mar. 2005. n. 53, Sec. 1, p.
584 58-63. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705.pdf>.

585 Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. 2001. Resolução RDC n. 12, de
586 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil, 10 jan. 2001,
587 Brasil.

588 Bush, A.O, Lafferty, K. D, Lotz, J. M, Shostak, A. W. 1997. Parasitology meets ecology on
589 its own terms: Margolis et al. revisited. Journal of Parasitology; 83(4): 575-583.
590 <http://dx.doi.org/10.2307/3284227>.

591 Carballal, M. J.; Iglesias, D.; Santamarina, J.; Ferro-Soto, B.; Villalba, A. 2001. Parasites
592 and pathologic conditions of the cockle *Cerastoderma edule* populations of the Coast of
593 Galicia (NW Spain). Journal of Invertebrate Pathology; (78), 1, p. 87-97.
594 <http://dx.doi.org/10.1006/jipa.2001.5049>

595 Ceuta, L. O.; Boehs, G. 2012. Parasites of the mangrove mussel *Mytella guyanensis* (Bivalvia:
596 Mytilidae) in Camamu Bay, Bahia, Brazil. Brazilian Journal of Biology, (72), 3, p. 421-427.

597 Cova, A. W.; Serafim Júnior, M.; Boehs, G.; Souza, J. M. 2015. Parasites in the mangrove
598 oyster *Crassostrea rhizophorae* cultivated in the estuary of the Graciosa River in Taperoá,
599 Bahia. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology. Jaboticabal, (24), 1, p. 21-27.

600 Cremonete, F.; Figueras, A.; Burreson, E.M. 2005. A histopathological survey of some
601 commercially exploited bivalve molluscs in northern Patagonia, Argentina. Aquaculture,
602 (249), p. 23-33.

603 Doi, S. A.; Fernande, A. J.C. O.; Barbieri, E. 2015. Determinação de coliformes na água e no
604 tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. Engenharia Sanitária
605 Ambiental, (20), 1, p.111-118. [http:// 10.1590/S1413-41522015020000125658](http://10.1590/S1413-41522015020000125658).

606 Downes e Ito, K. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of
607 foods. 4.ed. Washington, DC: American Public Health Association, p. 405-420.

608 Figueras, A.J.; Jardon, C.F.; Caldas, J.R. 1991. Diseases and parasites of mussels (*Mytilus*
609 *edulis*, Linneaus, 1758) from two sites on the east coast of the United States. Journal of
610 Shellfish Research, (10), p. 89-94.

611 Freitas, F.; Neiva, G. S.; Cruz, E. S.; Santana, J. M.; Silva, I. M. M.; Mendonça, F. S. 2017.
612 Qualidade microbiológica e fatores ambientais de áreas estuarinas da Reserva Extrativista
613 Marinha Baía do Iguape (Bahia) destinadas ao cultivo de ostras nativas. Engenharia
614 Sanitária e Ambiental (22): 4, p. 723-729.

615 Francisco, C. J.; Hermida, M. A.; Santos, M. J. 2010. Parasites and symbionts from *Mytilus*
616 *galloprovincialis* (Lamarck, 1819) (Bivalves: Mytilidae) of the Aveiro Estuary Portugal.
617 *Journal of Parasitology*, (96), p. 200-205. PMID:19785477. [http://dx.doi.org/10.1645/GE-](http://dx.doi.org/10.1645/GE-2064.1)
618 [2064.1](http://dx.doi.org/10.1645/GE-2064.1)

619 Funo, I. C. S. A; Antonio, I. G. Yllana Ferreira Marinho, Y.F.; Gálvez, A. O. 2015. Influência
620 da Salinidade Sobre a Sobrevivência e Crescimento de *Crassostrea gasar*. Boletim do
621 Instituto de Pesca, São Paulo, 41(4): p. 837 - 847.

622 Garcia, P.; Magalhães, A. R. M. 2008. Protocolo de identificação e quantificação de
623 bucefalose (enfermidade laranja) em mexilhões *Perna perna*. Boletim do Instituto de Pesca,
624 (34), p. 11-19.

625 Howard, D.W.; Smith, C.S. 1983. Histological techniques for marine bivalve mollusks.
626 Woods Hole, Massachusetts: NOAA Technical Memorandum. 97p.

627 Ingham, S.C. e Schimdt, D. 2000. Alternative indicator bacteria analyses for evaluating the
628 sanitary condition of beef carcasses. *Journal of Food Protection*, (63) 51-55.

629 Instituto Adolfo Lutz e Centro de Vigilância Epidemiológica "Professor Alexandandre
630 Vranjac". 2004. Diarréia e rotavírus. *Revista de Saúde Pública, São Paulo*, 38(6), 844-845.

631 Jay J.M. 2000. *Modern Food Microbiology*. Aspen Publishers (6), 620p.

632 Lauckner, G. 1983. Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: Kinne, O. *Diseases of Marine*
633 *Animals*. Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland. p. 477-970.

634 Lewis, M.; Pryor, R.; Wilking, L. 2011. Fate and effect of anthropogenic chemicals in
635 mangrove ecosystems: a review. *Environmental Pollution* (159), p. 2328-2346.

636 Lowe, D. M.; Salkeld, P. N.; Carr, M. R. 1994. The effect of geographical location on the
637 cellular composition of the mantle tissue of the mussel, *Mytilus edulis*. *Journal of the*
638 *Marine Biological Association of the United Kingdom*, (74), p.225-232.
639 <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315400035785>

640 Magalhães, A.R.M. 1998. Efeito da parasitose por Trematoda Bucephalidae na
641 reprodução, composição bioquímica e índice de condição do mexilhão *Perna perna*. 1998.
642 (Tese de Doutorado) Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo).
643 Disponível em: < <https://core.ac.uk/download/pdf/30386636.pdf> > Acessado em:
644 06/07/2018.

645 Martins, A.G.L.A.; Nascimento, A.R.; Vieira, R.H.S.F.; Serra, J.L.; Rocha, M.M.R.M. (2009)
646 Quantificação e identificação de *Aeromonas* spp. em águas de superfície do estuário do
647 rio Bacanga em São Luís / MA (Brasil). *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento*
648 *de Alimentos*, v. 27, n. 1, p. 107-118.

649 Paterson, K.J.; Schreider, M.J.; Zimmerman, K.D. 2003 Anthropogenic effects on seston
650 quality and quantity and the growth and survival of Sydney rock oyster (*Saccostrea*
651 *glomerata*) in two estuaries in NSW, Australia. *Aquaculture*, 221(1): 407- 423.

652 Pereira, C.S.; Viana, C.M.; Rodrigues, D. P.2004. *Vibrio parahaemolyticus* produtores de
653 urease isolados a partir de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) coletadas in natura em
654 restaurantes e mexilhões (*Perna perna*) de banco natural. *Ciência e Tecnologia de*
655 *Alimentos* (24), p. 591-595.

656 Pereira, M. A. et al. 2006. Qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea gigas*) produzidas
657 e comercializadas na região litorânea de Florianópolis. Brazilian Journal of Microbiology
658 (37), 2, p. 159-163. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822006000200012>

659 Pereira, C. S.; Viana, C. M.; Rodrigues, D. P. 2007. Vibrios patogênicos em ostras
660 (*Crassostrea rhizophorae*) servidas em restaurantes no Rio de Janeiro: um alerta para a
661 Saúde Pública. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 40(3), p.300-303.

662 Pontual, J.P.S.; Falbo A.R.; Gouveia, J.S. 2006. Estudo etiológico da diarreia em crianças
663 hospitalizadas no Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, IMIP, em Recife,
664 Pernambuco, Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil Recife, 6(1): 11-17.

665 Ribeiro, E. B.; Bastos, L.S.; Galeno, L. S.; Mendes, R. S.; Garino Jr, F. Carvalho- Neta, R. N.
666 F. 2016. Integrated assesment of biomarker responses and microbiological analysis of
667 oysters from São Luís Island Brazil. Marine Pollution Bulletin.

668 Ribeiro, M. M.; Oliveira, J. B.; Boehs, G. 2018. Parasitism by a Digenea in *Lucina pectinata*
669 (Mollusca: Lucinidae). Brazilian Journal of Biology, (78),1, p.94-97.
670 <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.07116>

671 Rodrigues, S.M. A.; Gonçalves, E. G. R.; Mello, D. M.; Oliveira, E. G.; Hofer, E. 2001.
672 Pesquisa de bactérias do gênero *Vibrio* em feridas cutâneas de pescadores do município de
673 Raposa-MA. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, (34), p.407-411.

674 Sabry R. C.; Da Silva, P. M.; Gesteira, T.C. V.; Pontinha, V. A.; Magalhães, A.R.M.
675 2011. Pathological study of oysters *Crassostrea gigas* from culture and *C. rhizophorae* from
676 natural stock of Santa Catarina Island, SC, Brazil. Aquaculture, 320(1-2): p.43-50.
677 <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.006>

678 Sabry, R.C.; Gesteira, T. C. V.; Boehs, G. 2007. First record of parasitism in the mangrove
679 oyster *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) at Jaguaribe River estuary - Ceará,
680 Brazil. Brazilian Journal of Biology, (67), p. 755-758.

681 Sabry, R. C.; Magalhães, A.R. 2005. Parasitas em ostras de cultivo (*Crassostrea rhizophorae* e
682 *Crassostrea gigas*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC. Arquivo Brasileiro Medicina
683 Veterinária e Zootecnia, (57), 2, p.194-203.

684 Sande, D.; Melo, T.A.; Oliveira, G.S.A.; Barreto, L.; Talbott, T.; Boehs, G.; Andrioli, J.B.
685 2010. Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e

686 Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. Brazilian Journal Veterinary Research Animal
687 Science,(47): 3, p. 190-196.

688 Santos, S. S.; Barreto,L. M.; Silveira, C. S.; Reis, N. A.; Lima, K. A.;Souza, J. S.;Norma Suely
689 Evangelista-Barreto. 2015. Condições sanitárias de ostras produzidas e comercializadas
690 em Taperoá, Bahia e o efeito da depuração na redução da carga microbiana. Acta of
691 Fisheries and Aquatic Resources, (3):.2, p. 49-60.[http://dx.doi.org .10.2312](http://dx.doi.org.10.2312).

692 Scardua, M. P.; Vianna, R. T.; Duarte, S. S.; Farias, N. D.; Correia, M. L. D.; Santos, H. T.
693 A.; da Silva, P. M. 2017.Growth, mortality and susceptibility of oyster *Crassostrea* spp. To
694 *Perkinsus* spp. infection during on growing in northeast Brazil.Brazilian Journal of
695 Veterinary Parasitology,Jaboticabal,(26), 4, p. 401-410.

696 Silva, A.I.M.; Vieira, R.H.S.F.; Menezes, F.G.R.; Fontineles-Filho, A.A.; Torres, R.C.O.;
697 Sant'anna, E.S. 2003.Bacteria of fecal origin in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) in
698 the Cocó River estuary, Ceará State, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, (34): 1-2, p.
699 126-130.

700 Sousa, F. R. 2004. Avaliação da taxa de crescimento de *Mytella falcata* (Orbigny, 1846) em
701 sistema de travesseiros no povoado de Paquatua, Município de Alcântara-MA. 42 p.
702 (Monografia, Universidade Estadual do Maranhão).

703 Su, Y.C. e Liu, C. 2007. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety. Food
704 Microbiology. (24), p.549-558.

705 Tall, A.; Hervio-Heath, D.; Teillon, A.; Boisset-Helbert, C.; Delesmont, R.; Bodilis, J.;
706 Touron-Bodili, A. 2013. Diversity of *Vibrio* spp. isolated at ambient environmental
707 temperature in the Eastern English Channel as determined by pyrH sequencing. Journal
708 of applied microbiology, v. 114, n. 6, p. 1713-1724,

709 Vieira, R. H. S. F.; Lima, E.A.;Sousa, D.B.R.; Reis, E.M.F.; Costa, R.G.; Rodrigues, D.P.
710 2004. *Vibrio* spp. and *Salmonella* spp. presence and susceptibility in crabs *Ucides cordatus*.
711 Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (46), p. 179-182.

712 Vieira,R.H.S.F.; Vasconcelos, R. F.;Carvalho, E. M. R. 2007. Quantificação de víbrios, de
713 coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa (*Crassostrea rhizophorae*), e na água do
714 estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE.Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal,
715 (1),1, p. 1-13. <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20070001>

716 Vieira, R.H.S.F.; Atayde, M.A.; Carvalho, E.M.R.; Carvalho, F.C.T.; Fontineles Filho, A.A.
717 2008. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário
718 do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): isolamento e identificação de *Escherichia coli* e
719 sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. Brazilian Journal of Veterinary
720 Research and Animal Science, (45): 3, p. 180-189.

721 Vilanova, M.F.V.; Chaves, E.M.B. 1988. Contribuições para o conhecimento da viabilidade
722 do cultivo da ostra do mangue *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828, *Mollusca*: Bivalvia)
723 no estuário do rio Ceará, Brasil. Arquivos de Ciências do Mar, (27), p. 111-125.

724 West, P.A. 1989. The human pathogenic vibrios. A public health update with environment
725 perspectives. *Epidemiology and Infection*, (103): 1, p.1-34.

726 Zhang, J.; Yang, X.; Kuang, D.; Shi, X.; Xiao, W. Zhang, J.; Gu, Z.; Xu, X.; Meng, J. 2015.
727 Prevalence of antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella* serovars in retail
728 aquaculture products. *International Journal of Food Microbiology*. (1),210. doi:
729 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.019

730 Zeidan, G. C.; Luz, M. S. A.; Boehs G. 2012. Parasites of economically important bivalves
731 from the southern coast of Bahia State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia*
732 *Veterinária*. (72), 3, p.421-427. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612012000400009>

733 Wardle, W. J. 1990. Larval Bucephalids (Trematoda: Digenea) parasitizing bivalve
734 molluscs in the Galveston Bay Area, Texas. *Journal of Helminthological Society of*
735 *Washington*. (57),1 p. 5-11.

BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA

INSTRUÇÃO AOS AUTORES

Instruções gerais

O trabalho deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, de acordo com a seguinte formatação: fonte Book Antiqua, tamanho 11; espaçamento entre linhas: 1,5; tamanho da página: A4; margens esquerda e direita: 2,5 cm; margens superior e inferior: 3,0 cm; número máximo de páginas, incluindo Figura(s) e/ou Tabela(s) e Referências: Artigo Científico: até 30 páginas; Nota Científica: até 15 páginas. As linhas devem ser numeradas sequencialmente, da primeira à última página. As páginas também devem ser numeradas. As notas de rodapé devem estar no texto.

Estrutura de Artigo Científico

A estrutura para o Artigo Científico é a seguinte: Título, Autor(es), Endereços institucionais (completos) e eletrônicos, Resumo, Palavras-chave, Título em inglês, Abstract, Key words, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos (opcional), Referências.

O Título, o Resumo e as Palavras-chave devem ser traduzidos para o inglês, no caso de artigos redigidos em português ou espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês ou espanhol.

Os termos: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos e Referências devem ser alinhados à esquerda e grafados em letras maiúsculas e em negrito.

TÍTULO

Deve ser claro e conciso (não deve se estender por mais do que duas linhas ou dez palavras), redigido em inglês e português. Deve ser grafado em letras maiúsculas e centralizado na página. No caso de trabalho desenvolvido com auxílio financeiro, informar na primeira página qual o agente financiador, indicado com asterisco, também apostado ao final do título. Recomenda-se que não seja inserido o nome científico da espécie e a referência ao seu descritor, a não ser que seja imprescindível (no caso de espécies pouco conhecidas).

NOME DO(S) AUTOR(ES)

Deve(m) ser apresentado(s) completo(s) e na ordem direta (prenome e sobrenome), com apenas o sobrenome pelo qual o(s) autor(es) deve(m) ser identificado(s) em caixa alta. A filiação do(s) autor(es), bem como um endereço completo para correspondência e um e-mail deverão ser colocados na primeira página, logo após o nome dos autores, sendo identificado(s) por números arábicos, separados por vírgula quando necessário. Independentemente do idioma do artigo, os dados da afiliação dos autores e sua localização geográfica devem ser apresentados no idioma de origem da instituição ou na sua versão inglês, quando a escrita não é latina. Em um artigo em inglês, por exemplo, a afiliação de uma instituição brasileira deve ser apresentada em português, como a seguir:

Instituto de Pesca, APTA, Secretaria da Agricultura e Abastecimento, Governo do Estado de São Paulo

Universidade de São Paulo, Faculdade de Geografia, Departamento de Geografia Física, São Paulo

Obs: Não serão aceitos trabalhos com mais de seis autores

RESUMO e Palavras-chave

O Resumo deve conter concisamente os objetivos, a metodologia, os resultados obtidos e as conclusões, utilizando no máximo 300 (trezentas) palavras. Deve ser redigido de forma que o leitor se interesse pela leitura do trabalho na íntegra.

Palavras-chave: no mínimo três (3) e no máximo seis (6), redigidas em letras minúsculas e separadas por ponto e vírgula. Não devem repetir palavras que constem do Título e devem identificar o assunto tratado, permitindo que o artigo seja encontrado no sistema eletrônico de busca.

ABSTRACT e Key words

Devem ser estritamente fiéis ao Resumo e Palavras-chave.

INTRODUÇÃO

Deve ocupar, preferencialmente, no máximo duas páginas, apresentando o problema científico a ser solucionado e sua importância (justificativa para a realização do trabalho), bem como a evolução/situação atual do assunto pesquisado. O último parágrafo deve expressar o objetivo, sendo coerente com o que consta no Resumo.

MATERIAL E MÉTODOS

Deve descrever sucintamente toda a metodologia utilizada, organizada de preferência na ordem de aplicação e de modo que o experimento possa ser reproduzido. Este item pode variar de acordo com a natureza temática do documento, mas em geral deve conter a descrição do procedimento amostral local, frequência, período, instrumento e métodos, outras variáveis relevantes ou o delineamento do experimento, a descrição dos tratamentos e das variáveis, o número de repetições e as características da unidade experimental. Deve informar sobre procedimentos estatísticos e transformações de dados. Deve-se evitar detalhes supérfluos, extensas descrições de técnicas de uso corrente e a utilização de abreviaturas não usuais.

RESULTADOS

Os Resultados devem ser apresentados em separado da Discussão. E isto pode ser feito textualmente ou sob a forma de Tabelas e/ou Figuras. Dados apresentados em Tabelas ou Figuras não devem ser repetidos sistematicamente no texto.

Tabelas:

Devem ser numeradas com algarismos arábicos e encabeçadas pelo Título (autoexplicativo). Recomenda-se que os dados apresentados em tabelas não sejam repetidos em gráficos, a não ser quando absolutamente necessário. As tabelas devem

ter, no máximo, 16 cm de largura. As tabelas devem ser em formato “retrato” e não ultrapassar uma página. Abreviaturas também devem ser evitadas, a não ser para unidades de medida. Se necessárias, porém, devem ter seu significado indicado em legenda sob a tabela.

Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotos):

Devem ter, no máximo, 16 cm de largura e 21 cm de altura, ser numeradas com algarismos arábicos, com título autoexplicativo logo abaixo. Palavras em gráficos e mapas devem estar em fonte legível. Não inserir gráficos, mapas ou fotos em tabelas ou quadros. Os gráficos não devem ter linhas de grade nem margens.

Tabelas e figuras devem ser inseridas no item mais apropriado no transcorrer do texto.

Os originais de desenhos, mapas e fotos devem ser enviados em arquivos distintos, preferencialmente em formato digital “tif” ou “jpeg, e permitir redução para 16 cm ou 7,5 cm de largura sem perda de definição.

DISCUSSÃO

A Discussão deve ser elaborada e não apenas uma comparação dos dados obtidos com os disponíveis em literatura. Deve focar e demonstrar as principais ideias e contribuições trazidas pelo trabalho, bem como comentar se há necessidade de novas pesquisas ou sobre eventuais limitações encontradas. Evitar repetir números já constantes dos resultados. A Discussão deve conter hipóteses e/ou comentários objetivos sobre os resultados, discutidos à luz de observações constantes da literatura especializada.

CONCLUSÃO

A Conclusão deve ser clara, concisa e responder ao objetivo do estudo. Deve, idealmente, ser capaz de propor uma solução (ou caminho de solução) para a demanda/problema, com base nos resultados obtidos.

AGRADECIMENTOS (opcional)

Devem ser sucintos, dirigidos a Instituição ou pessoa que tenha efetivamente colaborado para a realização do trabalho. De preferência, não deve ultrapassar cinco linhas.

Estrutura de Nota Científica

A Nota Científica deve seguir ordenação similar à de um Artigo Científico, contendo Título, Autor, Endereços institucional e eletrônico, Resumo, Palavras-chave, Título em inglês, Abstract, Key words, Introdução, Material e Métodos, Resultado(s) e, eventualmente, Discussão, Agradecimento(s) (opcional) e Referências. Resultados e Discussão, neste caso, podem ser apresentados como item único.

A formatação segue o mesmo padrão, mas com no máximo 15 páginas (incluindo tabelas e figuras).

Obs: Não serão aceitos trabalhos com mais de seis autores.

REFERÊNCIAS (normas para TODOS os tipos de publicação)

Devem ser apresentadas em ordem alfabética do sobrenome dos autores, sem numeração.

Devem conter os nomes de todos os autores, ano de publicação, o título do artigo (por extenso) e do periódico (também por extenso), número do volume e/ou edição e número e/ou intervalo de páginas.

A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido citados no texto são de responsabilidade do autor.

Dissertações e teses devem ser evitadas como referências. Porém, aceita-se quando absolutamente necessárias, mas devem estar disponíveis on-line.

Trabalhos de conclusão de graduação e resumos apresentados em congressos não são referências válidas.

Observação: inadequações nas referências também acarretarão a recusa do trabalho e a não devolução da taxa de submissão.

Como fazer citações no texto

Usar o sistema autor/data, ou seja, o sobrenome do autor em letras minúsculas e o ano em que a obra foi publicada. Exemplos:

* para um autor: “Mighell (1975) observou...”; “Segundo Azevedo (1965), a piracema...”; “Estas afirmações foram confirmadas em trabalhos posteriores (Wakamatsu, 1973)”.

* para dois autores: “Richter e Efanov (1976) pesquisando...” Se o artigo que está sendo submetido estiver redigido em português, utilizar “e” ligando os sobrenomes dos autores. Se estiver redigido em inglês utilizar “and” (Richter and Efanov, 1976), se em espanhol, utilizar “y” (Richter y Efanov, 1976).

* para três ou mais autores: o sobrenome do primeiro autor deve ser seguido da expressão “et al.”. Exemplo: “Soares et al. (1978) constataram...” ou “Tal fato foi constatado na África (Soares et al., 1978).”

* para o mesmo autor, em documentos de anos diferentes, respeitar a ordem cronológica, separando os anos por vírgula. Exemplo: “De acordo com Silva (1980, 1985)...”

* para citação de vários autores sequencialmente, respeitar a ordem cronológica do ano de publicação e separá-los por ponto e vírgula. Exemplo: “...nos viveiros comerciais (Silva, 1980; Ferreira, 1999; Giamas e Barbieri, 2002)...”

* quando for ABSOLUTAMENTE necessário se referir a um autor, ainda que não em razão de uma consulta direta ao trabalho por ele publicado, o nome desse autor deve ser citado em letras minúsculas apenas no texto, indicando-se logo a seguir, entre vírgulas e precedido da palavra latina apud, o nome do autor e ano do trabalho efetivamente consultado no qual aparece a referência ao autor não diretamente lido. Ex.: “Segundo Gulland, apud Santos (1978), os coeficientes...”.

Como fazer citações na listagem de REFERÊNCIAS DE DOCUMENTOS IMPRESSOS

Artigos científicos são listados como segue:

Barbieri, E.; Bondioli, A.C.V.; Henriques, M.B. 2014. Nitrite toxicity to *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels. *Aquaculture Research*, 47(4): 1260-1268.

DOCUMENTOS COM DOI

Barbieri, E.; Coa, F.; Rezende, K.F.O. 2016. The exotic species *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) occurrence in Cananea, Iguape and Ilha Comprida lagoon estuary complex. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(3): 479-485. <http://dx.doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n1p479>.

As referências devem ser ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do autor principal. Havendo mais de uma obra com o mesmo sobrenome, considera-se a ordem cronológica e, persistindo a coincidência, a ordem alfabética do terceiro elemento da referência.

Recordando, após o nome dos autores, inserir o ano da publicação, o título do artigo, o título do periódico (NÃO DEVE SER ABREVIADO), o volume, o fascículo (entre parênteses) e o número/intervalo de páginas.

A citação de dissertação e tese, tipos de documentos que se pode utilizar apenas quando ABSOLUTAMENTE necessário e se estiver disponível on line, deve ser feita como segue:

Bernadochi, L.C. 2012. Captação de sementes em coletores artificiais e cultivo da ostra perliífera *Pinctada imbricata* (Mollusca: Pteriidae), São Paulo, Brasil. São Paulo. 75f. (Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesca, APTA). Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br/dissertacoes.pg.php>> Acesso em: 22 ago. 2014.

Para livro, também utilizado apenas quando ABSOLUTAMENTE necessário, a citação deve ser:

Gomes, F.P. 1978. Curso de estatística experimental. 8ª ed. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". 430p.

Engle, R.F.; Granger, C.W.J. 1991. Long-run economic relationship: readings in cointegration. New York: Oxford University Press. 301p.

New, M.B.; Valenti, W.C.; Tidwell, J.H.; D'Abramo, L.R.; Kutty, M.N. Freshwater prawns: biology and farming. Wiley-Blackwell, Oxford. 544p.

Capítulo de livro ou publicação em obra coletiva, cita-se:

Moraes-Valenti, P.; Valenti, W.C. 2010. Culture of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. In: New, M.B.; Valenti, W.C.; Tidwell, J.H.; D'Abramo, L.R.; Kutty, M.N. Freshwater prawns: biology and farming. Wiley-Blackwell, Oxford. p. 485-501.

Leis, Decretos, Instruções Normativas e Portarias são incluídas na listagem como segue:

Brasil, 1988. Constituição da República Federativa do Brasil. Diário Oficial da União, Brasília, 05 de outubro de 1988, nº. 191-A, Seção 1, p. 1.

Brasil, 2000. LEI nº. 9.985, de 18 de julho de 2000. Regulamenta o Art. 225, § 1º., incisos I, II, III, e VII da Constituição Federal, institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 19 de julho de 2000, nº. 138, Seção 1: p. 45.

Brasil, 1990. Decreto nº. 98.897, de 30 de janeiro de 1990. Dispõe sobre as reservas extrativistas e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 31 de janeiro de 1990, nº. 22, Seção 1, p. 2.

Brasil, 2007. Instrução Normativa nº. 02, de 18 de setembro de 2007. Disciplina as diretrizes, normas e procedimentos para formação e funcionamento do Conselho Deliberativo de Reserva Extrativista e de Reserva de Desenvolvimento Sustentável. Diário Oficial da União, 20 de setembro de 2007, nº. 182, Seção 1, p. 102.

ICMBIO – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2010b Portaria nº. 77, de 27 de agosto de 2010. Cria o Conselho Deliberativo da Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo/RJ. Diário Oficial da União, Brasília, 01 de setembro de 2010, nº. 168, Seção 1: p. 69.

DE MEIOS ELETRÔNICOS (periódicos publicados exclusivamente on line; documentos consultados online e em CD-ROM)

Exemplos:

Lam, M.E.; Pauly. D. 2010. Who is right to fish? Evolving a social contract for ethical fisheries. *Ecology and Society*, 15(3): 16. [online] URL: <<http://www.ecologyandsociety.org/vol15/iss3/art16/>>

Castro, P.M.G. (sem data, on line) A pesca de recursos demersais e suas transformações temporais. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br/textos.php>> Acesso em: 3 set. 2017.

Toledo Piza, A.R.; Lobão, V.L.; Fahl, W.O. 2003. Crescimento de *Achatina fulica* (gigante africano) (Mollusca: Gastropoda) em função da densidade de estocagem. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o progresso da Ciência, 55, Recife, 14-18 jul./2003. Anais... Recife: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. 1 CD-ROM.

INSTRUÇÕES COMPLEMENTARES

Fórmula, expressão e equação matemática

As fórmulas, expressão e equação matemática devem ser inseridas no texto (não utilizar figura). Exemplo: $TE = (N.Fm^{-1}) \cdot 100$.

Unidade de medida

Deve ser apresentada segundo o Sistema Internacional de Unidades (SI). Exemplo: 10 m²; 100 peixes m⁻²; 20 t ha⁻¹; g L⁻¹.

Número de casas decimais

Deve ser padronizado para todo o texto. Por exemplo, grafado o comprimento dos exemplares amostrados com uma casa decimal, em todo o texto os valores referentes a esse parâmetro devem ser grafados com uma casa decimal.

Anexo e apêndice

Não devem ser utilizados.

5.2 CAPÍTULO II

Fauna bêntica associada a um cultivo de *Crassostrea gasar* (Deshayes, 1830) no nordeste do Brasil

DENISE C.D.S. MENDES¹, EMANUELLE F. PRASERES², VERÔNICA M. DE OLIVEIRA³, TIAGO M. LENZ³, ÍCARO G. ANTONIO³

1-Discente do Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, denisemendess2@yahoo.com.br. Cidade Universitária Paulo VI, s/n, Cidade Operária, São Luís, MA 65055-000, Brasil (Autor para correspondência)

2-Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, s/n, Cidade Operária, São Luís, MA 65055-000, Brasil

3- Docente do Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, s/n, Cidade Operária, São Luís, MA 65055-000, Brasil
Seção: Zootecnia e Recursos Pesqueiros

RESUMO

O cultivo de moluscos bivalves pode ser realizado em estruturas fixas ou flutuantes e o baixo dinamismo e submersão que esses sistemas estão sujeitos, fornecem ambiente ideal para o crescimento e proliferação de outros organismos. Por isso o presente trabalho teve como objetivo identificar a fauna bentônica associada ao cultivo da ostra *Crassostrea gasar* e verificar suas relações ecológicas. As amostras foram coletadas nos meses de novembro e dezembro de 2017 e março e julho de 2018 em pontos sobre as estruturas de cultivo, manualmente. Em seguida, os animais foram anestesiados, fixados em formol e identificados em laboratório ao menor nível taxonômico com auxílio de bibliografia especializada. Foram quantificados 1321 indivíduos pertencente a 28 táxons, Crustacea foi o mais abundante nas amostras (69,03 %) seguido pelo filo Mollusca, (22,93%). As espécies dominantes foram *Amphibalanus amphitrite*, *Amphibalanus venustus* e *Stramonita haemastoma* que juntos somaram 72,89 % da população. A maior diversidade foi registrada em julho, mês de menor salinidade. Das espécies identificadas as cracas do gênero *Amphibalanus* e o gastrópode *Stramonita* são competidores e predadores das ostras cultivadas, assim faz-se importante o monitoramento dessas espécies e o manejo do cultivo a fim de evitar perdas na produção.

Palavras-Chave: Ostras, ostreicultura, competição, predação.

INTRODUÇÃO

O cultivo de moluscos bivalves no Brasil é uma atividade recente, datando de pouco mais de quarenta anos. A ostreicultura mais especificamente possui enfoque em três espécies, duas endêmicas *Crassostrea rhizophorae* (Guilding 1828) e *Crassostrea gasar* (Adanson 1757) e uma exótica *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793).

No Maranhão essa atividade em estuários teve início no ano de 1999 através de recursos governamentais com o cultivo da ostra *C. rhizophorae* e o sururu *Mytella falcata* (Sousa, 2004; Ramos e Castro, 2004). Desde então, estudos vem sendo desenvolvidos com *C. rhizophorae* e *C. gasar* que ocorrem naturalmente nos estuários maranhenses e apresentam um bom desenvolvimento em ambiente natural (Lopes et al., 2018; Pereira et al., 2003).

O cultivo de bivalves pode ser realizado em diversas estruturas, como mesas ou camas fixas, varais e balsas ou espinhéis flutuantes. Devido ao baixo dinamismo e submersão que estão sujeitos, esses sistemas fornecem ambiente ideal para o crescimento e proliferação de outros organismos nas estruturas de cultivo e sobre as valvas dos moluscos, tornando-se um problema para a produtividade do cultivo (Carver et al., 2003; Ramsay et al., 2008).

A fauna associada aos cultivos é, em sua grande maioria representada por grupos de invertebrados naturalmente presentes nos estuários. Dentre eles estão anelídeos, crustáceos, cirripídeos, moluscos, equinodermos, nematódeos, hidrozoários, briozoários, ascídias e sipunculídeos (Neves e Valentim, 2011).

Existem nesse ambiente diversas interações ecológicas, dentre elas destacam-se a predação e a competição, que são as maiores causadoras de mortalidade em moluscos de cultivo. Dentro das espécies predadoras mais prevalentes estão *Stramonita brasiliensis*, *Stramonita haemastoma* e *Cymatium parthenopeum* (Claremont e Reid, 2011) que se alimentam da carne dos bivalves abrindo sua concha (Manzoni e Lacava, 1998). Os

cirripídeos são os competidores mais comuns das áreas de ostreicultura, popularmente conhecidos como cracas (Farrapeira, 2006, 2007), tendo *Amphibalanus* como gênero mais comumente encontrado em áreas estuarinas (Farrapeira, 2008). Esse grupo forma aglomerados de indivíduos dificultando a passagem de alimento e oxigênio para as ostras cultivadas, sendo considerado uma praga na ostreicultura (Uribe et al., 2001; Lodeiros, et al., 2001).

Medidas para amenizar a proliferação desses animais nas estruturas de cultivo têm sido adotadas em malacoculturas pelo mundo, dentre elas a aplicação de produtos químicos, sprays, coleta manual e controle biológico por meio da utilização de invertebrados raspadores, sendo as duas últimas mais eficazes e menos prejudiciais ao cultivo (Gelli et al., 2005; Roma et al., 2009). Onde o controle biológico não é aplicado, a redução das incrustações é realizada com o manejo manual das estruturas (lanternas, mesas e cordas) nos cultivos dos moluscos por meio da remoção periódica. A ausência de manejos periódicos pode favorecer o aumento da população de predadores, competidores e parasitas, levando à possíveis perdas na produção.

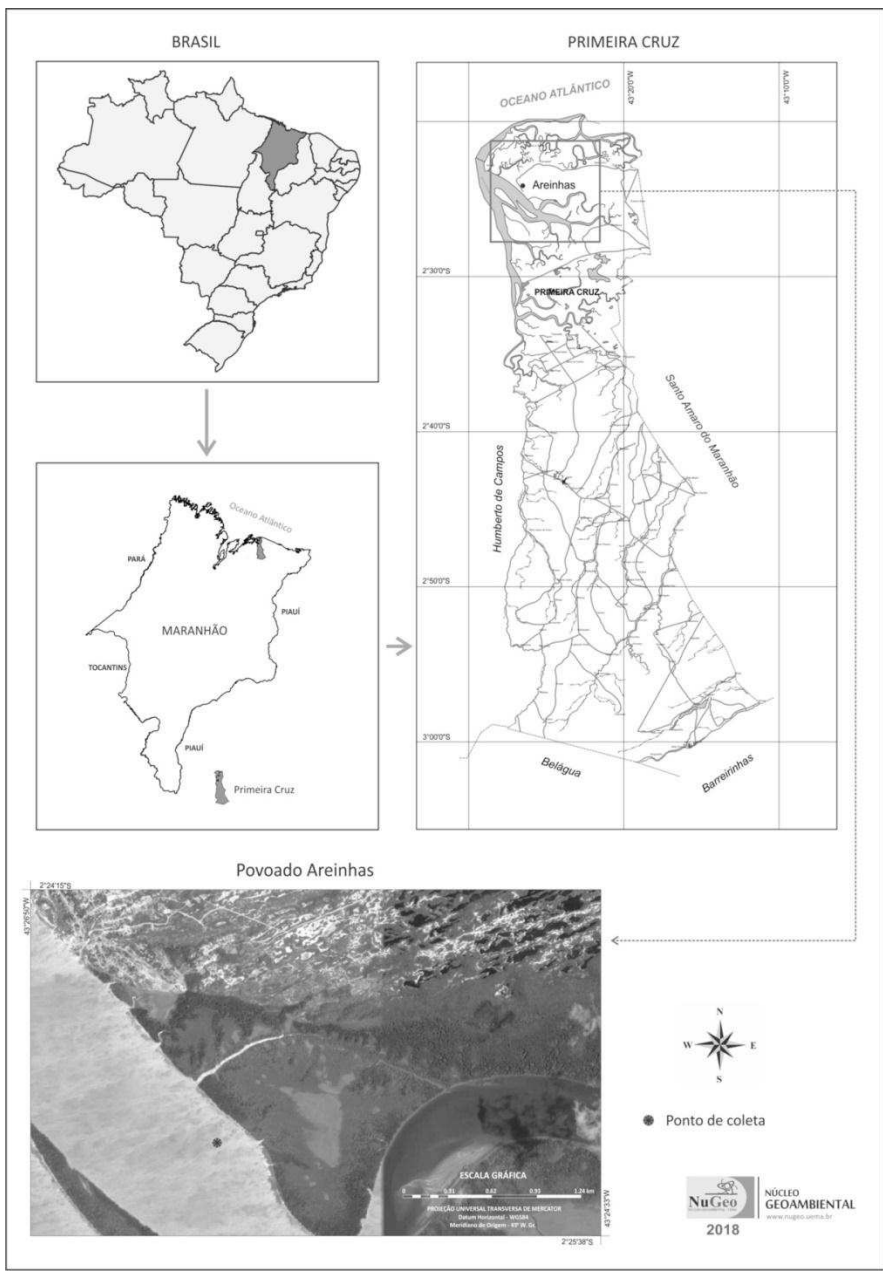
Estudos que visam à identificação e o entendimento da relação entre a fauna associada às ostras cultivadas são importantes para subsidiar o desenvolvimento da ostreicultura no estado do Maranhão. Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo identificar a fauna bêntica associada ao cultivo da ostra *C. gasar*, verificar as relações ecológicas entre ambos a fim de contribuir para o conhecimento sobre a fauna associada aos cultivos e suas implicações para a ostreicultura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização da área de estudo

O cultivo experimental de ostras localiza-se em uma área estuarina no povoado Areinhas (2°25'15,9"S 43°26'5,1"W) que pertence ao município de Primeira Cruz, inserido namicrorregião dos Lençóis Maranhense e Mesorregião Norte Maranhense (Figura 1). A área territorial é de 1.367 Km² e população estimada é de 13.954 habitantes (IBGE, 2016).

Figura 1. Localização do cultivo experimental de ostras em Areinhas, Primeira Cruz, Maranhão, Brasil



Fonte: Nucleo Geoambiental-Nugeo, 2018

As temperaturas são superiores a 27°C, com sazonalidade demarcada por um período seco e outro chuvoso. O litoral está sobre a formação geológica de aluviões marinhos e feição geomorfológica do litoral com o predomínio de solos indiscriminados ao longo de todo litoral que favorecem a vegetação de mangue. O município está inserido na Bacia Hidrográfica do Peraiá e apresenta precipitação pluviométrica anual variando de 1.600 a 2.000 mm (MONTELES et al., 2010).

Caracterização do cultivo experimental de ostras

A estrutura de cultivo das ostras foi denominada de cama ou mesa fixa, constituída de cano de Policloreto de Vinila (PVC) e telas vazadas. As dimensões da cama foram seis metros de comprimento por um metro e vinte cinco centímetros de largura e um metro e meio de altura.

A unidade de cultivo instalada permitiu que as ostras fossem expostas por duas horas ao dia na baixa-mar. As densidades utilizadas para o cultivo foram de 80, 120, 160 e 200 indivíduos por travesseiro, com quatro repetições por densidade.

Coleta da fauna associada aos animais cultivados

A fauna de invertebrados foi coletada manualmente nos meses de novembro e dezembro de 2017 (período seco) e março e julho de 2018 (período chuvoso). Quatro áreas sobre as extremidades da estrutura de cultivo e quatro áreas na parte central superior das mesmas foram amostrados (área = 20cm x 5cm). Depois de removida a macrofauna foi inserida em frascos de vidro de 1kg e anestesiada com cloreto de magnésio. Posteriormente os animais foram fixados em formol a 5% e transportados ao laboratório de Zoologia da Universidade Estadual do Maranhão para o processamento. No laboratório, os animais foram lavados em água corrente em peneira, granulométrica de 0,5 mm de diâmetro, separados e acondicionados em potes plásticos. Após a triagem inicial os animais foram analisados em estereomicroscópio e a identificação ao menor nível taxonômico foi realizada através de consulta a literatura especializada (Farrapeira, 2008; Nunes e Mendonça, 2013; Haimovici et al., 1994; Gil et al., 2010).

Paralelamente às amostragens biológicas, os parâmetros abióticos (temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido) foram mensurados *in situ* através de aparelho multiparâmetro da marca HANNA e refratômetro manual, respectivamente. A precipitação dos meses da pesquisa foi obtida junto ao Núcleo Geoambiental da Universidade Estadual do Maranhão (NUGEO/UEMA).

Análise dos dados

Para verificar possíveis diferenças na estrutura das comunidades existentes durante o período de estudo, foi aplicada Análise de Variância unifatorial (ANOVA) por meio do programa PRIMER. Para a análise de diversidade e equitabilidade foram aplicados os índices ecológicos de Shannon-Wiener (H') e Pielou (J'). Foram obtidos os descritores de comunidade para os meses (abundância, riqueza e frequência de ocorrência). As espécies foram classificadas como constantes, quando presentes em mais de 50% das amostras; acessórias, quando presentes de 25 a 50% das amostras; e acidentais, quando presentes em menos de 25% das amostras de acordo com o proposto por (Dajoz, 1973). Os resultados ecológicos foram obtidos com o auxílio do programa PAST.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Variáveis abióticas

A temperatura da água variou de 30 °C a 31 °C, a salinidade de 24 a 41 e o oxigênio dissolvido entre 5,3 a 5,7mg/L (Figura 2). Os parâmetros abióticos tiveram poucas diferenças durante os meses do estudo, exceto a salinidade que teve redução significativa na mudança do período seco para o chuvoso.

Figura 2. Variáveis abióticas da água do cultivo experimental de ostras em Areinhas, Primeira Cruz, MA

Estação	Mês/ano	Temperatura °C	Salinidade	Oxigênio mg/L
Seca	Novembro/17	30	40	5,7
	Dezembro/17	30	40	5,7
Chuvosa	Março/18	31	30	5,3
	Julho/18	30	24	5,3

Flutuações de salinidade foram observadas em áreas estuarinas do estado do Maranhão (Cutrim et al., 2018, 2017; Sousa et al., 2015), onde foram observadas variações de 11 a 39,4. Funo et al., (2015) afirmaram que a salinidade no litoral dos

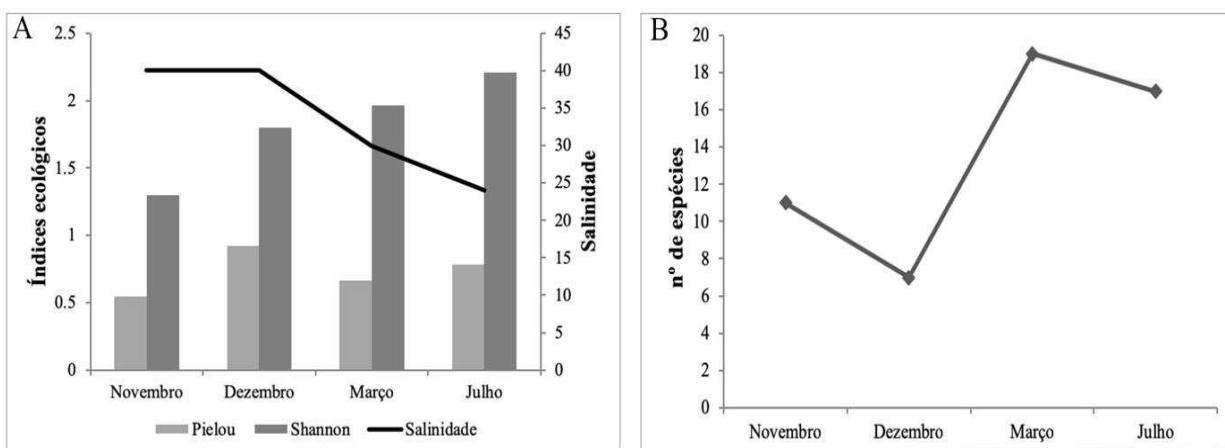
municípios maranhenses de Icatu, Primeira Cruz e Humberto de Campos, varia entre 5 e 37, mas nas áreas de bancos naturais de ostras oscila entre 10 e 40.

Em ambientes estuarinos, a salinidade é a variável abiótica de maior influência para todos os seres vivos que se distribuem de acordo com seu gradiente (Day et al, 1989). Porém, não devem ser descartadas as demais variáveis como temperatura, oxigênio e características do substrato, por serem fatores de influência na ecologia das espécies (Neves e Valentin, 2011).

Índices ecológicos

O valor mais elevado da equitabilidade foi registrada em dezembro ($J' = 0,92$), enquanto a diversidade em foi maior em julho ($H' = 2,21$) e a riqueza em março (19 espécies) (figura 3A, –B). A diversidade obteve aumento conforme a mudança dos meses da estação seca para chuvosa. Março e julho que são os meses chuvosos, consequentemente apresentaram menor salinidade (30 e 24) e maior diversidade de organismos.

Figura 3. A: relação da diversidade e equitabilidade da fauna bêntica com a salinidade da água nos meses de novembro e dezembro de 2018, março e julho de 2018 no cultivo de ostras em Primeira Cruz, MA. B: Riqueza observada nos meses de amostragem.



A salinidade é um fator importante na distribuição da fauna bêntica (Oliveira e Mochel, 1999; Ysebaert et al., 2003) e sua variação está relacionada a temperatura e regime de chuvas (Neves et al., 2007). Nessa estação, o aporte de nutrientes lançados nos estuários aumenta a oferta de alimento, podendo ter influência positiva na abundância das espécies.

Os resultados do presente trabalho corroboram com Rosa-Filho e Aviz (2013) Silva et al. (2017) que observaram a salinidade influenciando na abundância e composição das espécies no estuário do Pacoti, Ceará.

Composição da fauna associada ao cultivo de ostras

Ao todo foram quantificados 1321 indivíduos pertencentes a 28 táxons. O subfilo Crustacea foi o mais abundante nas amostras 69,03 % (912 indivíduos) seguido pelos filos Mollusca, 22,93% (303 indivíduos) e Annelida (Polychaeta) 6,58 % (87 indivíduos). Cnidaria, Sipuncula e Turbellaria foram pouco representativos com menos de 2% de abundância (Figura 5 A–B). As famílias mais representativas foram Balanidae, Muricidae e Nereididae (Figura 4), entre os meses do estudo não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as espécies.

Crustáceos são abundantes nos estuários e manguezais ocorrendo associados a cultivos de moluscos bivalves (Boehs e Magalhães, 2004; Sousa et al., 2007). Altas densidades de crustáceos no sistema de cultivo de *Crassostrea gasar* já havia sido registrada no litoral ocidental do Maranhão, corroborando com os dados do presente trabalho (Funio, 2016).

Foram consideradas dominantes as espécies de Cracas *Amphibalanus amphitrite*, *Amphibalanus venustus* que juntas somaram mais de 50% dos organismos da população. Essas espécies também foram consideradas frequentes ocorrendo em todas as amostras (Figura 6). As cracas do gênero *Amphibalanus* são conhecidas por se fixarem em diversos tipos de substratos. Em cultivo de bivalves são relatadas como animais incrustantes se fixando nas lanternas, armações e valvas dos moluscos (Fitridge et al., 2012 Farrapeira, 2008).

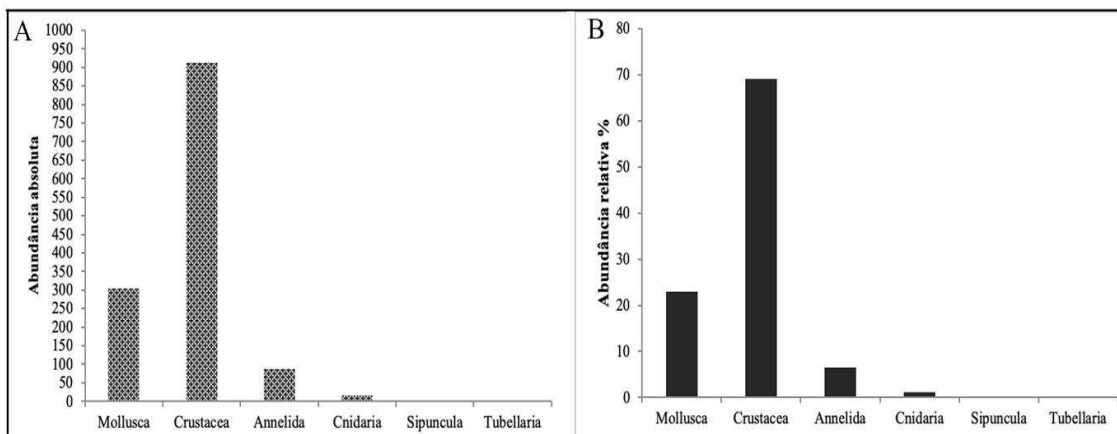
Elas atuam como competidoras das ostras, impedindo ou dificultando a entrada de alimento dentro das estruturas. No Maranhão, *A. amphitrite* foi encontrada fixada em grande densidade (acima de 100 indivíduos/m²) por Funio (2016) em um cultivo *C. gasar* do tipo balsa e espinhel, no estuário das ostras, município de Raposa, provocando danos aos cultivos, já que as densidades elevadas afetam o crescimento e sobrevivência das ostras.

Figura 4. Espécies associadas ao cultivo de *C.gasar* em Primeira Cruz, MA. A.A: Abundância Absoluta; A.R: Abundância Relativa

Filo	Classe	Família	Espécie	A. A	A. R (%)
Mollusca	Gastropoda	Muricidae	<i>Stramonita haemastoma</i>	280	21,19
			<i>Stramonita brasiliensis</i>	1	0,07
		Fasciolaridae	<i>Pleuroploca aurantiaca</i>	2	0,15
		Columbellidae	<i>Parvanachis obesa</i>	6	0,45
		Littorinidae	<i>Littoraria flava</i>	1	0,07
	Bivalvia	Ostreidae	<i>Neritina virgínea</i>	4	0,3
			<i>Crassostrea gasar</i>	9	0,68
Arthropoda	Malacostraca	Panopeidae	<i>Eurytium limosum</i>	20	1,51
		Panopeidae	<i>Panopeus lacustres</i>	4	0,3
		Porcellanidae	<i>Petrolisthes armatus</i>	48	3,63
		Sesarmidae	<i>Sesarma crassipes</i>	47	3,55
		Penaeidae	<i>Litopenaeus schmitti</i>	3	0,2
		Diogenidae	<i>Clibanarius vittatus</i>	2	0,15
	Hexanauplia	Lepadidae	<i>Lepas (Anatifa) pectinata</i>	105	7,94
			<i>Amphibalanus amphitrite</i>	330	24,98
			<i>Amphibalanus venustus</i>	353	26,72
	Annelida	Polychaeta	Nereididae	<i>Alitta succinea</i>	63
Ampharetidae			<i>Isolda pulchella</i>	1	0,07
Phyllodocidae			<i>Eumida macrophthalma</i>	8	0,6
Phyllodocidae			<i>Eumida dracodermica</i>	8	0,6
Spionidae			<i>Polydora</i> sp.	1	0,07
Dorvilleidae			<i>Dorvillea</i> sp.	1	0,07
Terebellidae			<i>Nicolea uspiana</i>	1	0,07
Terebellidae			<i>Streblosoma porchatensis</i>	3	0,22
Sabellidae			<i>Branchiomma luctuosum</i>	1	0,07
Cnidaria	Anthozoa			16	1,21

Sipuncula		2	0,15
Platyhelminthes	Turbellaria	1	0,07
Total		1321	100

Figura 5. Abundância absoluta (A) e relativa (B) por grupos de invertebrados associados ao cultivo de ostras nos meses de novembro, dezembro de 2017 e março e julho de 2018 em Areinhas, Primeira Cruz, MA



Novembro (período seco) foi o mês com maior abundância dos indivíduos *A.amphitrite* (233 ind) e *A.venustus* (218 ind.) (Figura 7), esse mês foi um dos que apresentou maior salinidade da água (40). A salinidade é um fator que condiciona a distribuição desses crustáceos nas zonas estuarinas e determina a abundância ao longo do estuário (Achituv, 1984). O gradiente de salinidade é um fator importante na ocorrência dos cirrípedos, visto que em Recife no estado de Pernambuco os organismos aumentaram sua ocorrência conforme o aumento da salinidade e reduziram na proporção inversa (Farrapeira, 2006).

Correia (1998) também observou a distribuição de *A. amphitrite* foi relacionada ao gradiente de salinidade no estuário de Mundaú-Manguaba, em Alagoas, onde elas ocorreram em maior abundância em meses com água mais salina. Além dessa variável, outro fator que possivelmente condicionou o aumento na abundância das cracas no presente trabalho foi a demora no manejo das estruturas de cultivo no mês de novembro, (mais de 15 dias sem a limpeza). Resultados semelhantes foram observados em cultivo de vieiras, onde os moluscos reduziram significativamente seu crescimento em lanternas que não foram manejadas por mais de 16 semanas (Pit e Southgate, 2003). O manejo é um

processo de extrema importância na aquicultura e em sua realização periódica são retirados animais e vegetais que atuam como predadores, competidores e parasitas otimizando assim o crescimento e a sobrevivência dos animais cultivados.

Figura 6. Frequência de ocorrência (FO) dos organismos bênticos associados ao cultivo de ostras em Areinhas, Primeira Cruz, MA

Táxon	FO %	Classificação
<i>Stramonita haemastoma</i>	100	Constante
<i>Stramonita brasiliensis</i>	25	Acidental
<i>Panopeus lacustres</i>	25	Acidental
<i>Crassostrea gasar</i>	50	Acessória
<i>Petrolisthes armatus</i>	75	Constante
<i>Pleuroploca aurantiaca</i>	25	Acidental
<i>Sesarma crassipes</i>	100	Constante
<i>Alitta succinea</i>	100	Constante
<i>Amphibalanus amphitrite</i>	100	Constante
<i>Amphibalanus venustus</i>	100	Constante
<i>Parvanachis obesa</i>	50	Acessória
<i>Clibanarius vittatus</i>	50	Acessória
<i>Neritina virgínea</i>	50	Acessória
<i>Litopenaeus schimtti</i>	50	Acessória
<i>Lepas pectinata</i>	50	Acessória
<i>Littoralia flava</i>	25	Acidental
Anthozoa	75	Constante
Sipuncula	25	Acidental
<i>Isolda pulchilla</i>	25	Acidental
<i>Eumida macrofitalma</i>	50	Acessória
<i>Polydora sp.</i>	25	Acidental
<i>Dorvileia sp.</i>	25	Acidental
<i>Nicolea uspiana</i>	25	Acidental
Turbellaria	25	Acidental
<i>Eumida dracodermica</i>	25	Acidental
<i>Streblosoma porchatensis</i>	25	Acidental

<i>Branchiomma luctuosum</i>	25	Acidental
<i>Eurytium limosum</i>	25	Acidental

A espécie *Stramonita haemastoma*, foi a segunda espécie dominante ocorrendo com 100% de frequência e 21,1% de representatividade na população total (Figuras 4 e 6). Os gastrópodes são comuns em ambientes estuarinos destinados a malacocultura, mantendo relações de competição e predação (Ysebaert et al., 2009; Pit e Southgate, 2003). *S. haemastoma* é um gastrópode carnívoro e predador, habitante de rochas, considerado em muitos ambientes como um organismo chave, pois tem a capacidade de determinar a estrutura e organização de comunidades intertidais (Rilov et al., 2001).

Possui ampla distribuição em todo litoral ocidental, iniciando da Carolina do Norte até o Brasil, na aquicultura é conhecido por se alimentar de moluscos bivalves (Manzoni e Lacava, 1998). Em nível mundial é considerado uma praga em cultivo de mexilhões e ostras ocorrendo em surtos (Garton e Stickle, 1980; Rollere e Stickle, 1989).

A maior salinidade (40) foi registrada no mês de novembro e conseqüentemente havendo a maior abundância *S. haemastoma* (109 ind.). Estudos registraram que o aumento dessa população está diretamente relacionado com a salinidade (Garton e Stickle, 1980; Rollere e Stickle, 1989). No presente trabalho o aumento populacional observado nesse mês pode ser fruto da condição ambiental favorável e a falta do manejo no sistema de cultivo. A ocorrência desse predador em todos os meses de amostragem, classifica esse gastrópode como uma praga nesses ambientes. Assim, o manejo periódico das estruturas deve ser realizado como medida de controle à proliferação desses predadores nos cultivos de ostras.

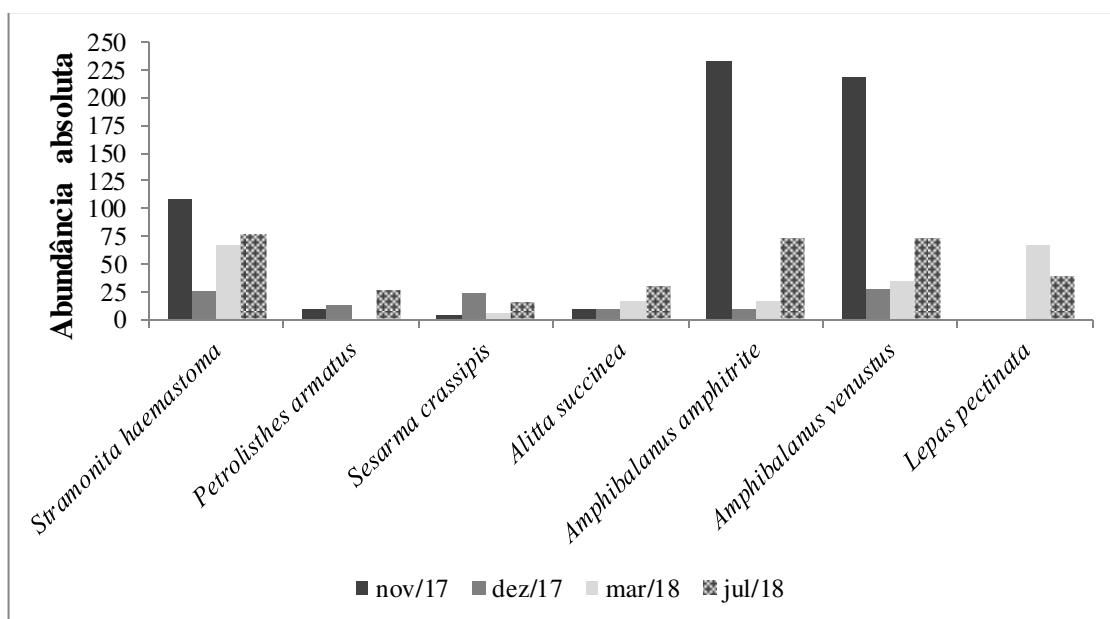
O crustáceo *Lepas pectinata* (105 ind.) também se destacou com uma das espécies mais abundantes e teve sua ocorrência registrada apenas nos meses chuvosos (março e julho) e foi frequente em 50% das amostras, *Alitta succinea* (63 ind.) que esteve presente em todos os meses (100% frequente) e aumentou em quantidade nos meses chuvosos, *Petrolisthes armatus* (48 ind.) que ocorreu em todos os meses exceto em março (75% de frequência) e *Sesarma crassipes* (47 ind.) que oscilou a abundância durante os meses, mas foi considerada frequente ocorrendo em 100% das amostras (Figura 7).

O gênero *Lepas* é possui os invertebrados popularmente conhecido como craca de ganso. São animais pelágicos e especializados à vida no neustôn, são encontrados fixados à substratos como pedras e navios, e em animais aquáticos como focas, caramujos,

peixes e tartarugas. Possui distribuição em todo oceano tropical e sua dispersão é ampla devido às fortes correntes e ao transporte por animais aquáticos (Barreiros e Teves, 2005; Hinojosa et al., 2006). *Lepas* estiveram presente no nordeste do Brasil apenas no arquipélago de São Pedro e São Paulo (Farrapeira, 2010), Atol das Rocas (Paiva et al., 2007; Young, 2007), Paraíba (Young, 1990), Pernambuco (Farrapeira et al., 2007, Farrapeira, 2010) e Bahia (Weisbord, 1979; Young, 1990; Young e Serejo, 2005).

No estado do Maranhão, Silva e Eugênio (1998) registraram a ocorrência do gênero na Ilha de São Luís. Para a área de estudo até o presente momento não foram obtidos registros para a *L. pectinata* e também é desconhecida a relação da espécie com moluscos bivalves de cultivo, necessitando assim de estudos mais aprofundados nesse sentido.

Figura 7. Distribuição temporal das espécies mais abundantes associadas ao cultivo da ostra *C.gasar* em Primeira Cruz, MA.



O anelídeo *Alitta succinea* é um poliqueta de vida livre que habita tubos escavados nos sedimentos ou tubos de outros poliquetas. É um organismo de importância ecológica e econômica, pois, é utilizado como bioindicador de contaminação aquática e como alimento para peixes na aquicultura. Sua dieta depende do habitat, podendo ser carnívoros, herbívoros ou detritívoros (Villalobos-Guerrero, 2012). É uma espécie de ambientes costeiros e se distribui em toda a costa do Atlântico. No Brasil ocorre nas regiões norte, nordeste, sul e sudeste (Amaral et al., 2012). Para o estado do Maranhão foi

registrada baixas densidades nos estuários da baía de São Marcos e São José, pertencentes a ilha de São Luís (Mochel, 1997; Cutrim, 2018, 2017).

O aumento dos poliquetas nos meses chuvosos em relação aos secos na presente pesquisa corrobora com os resultados observados por Cutrim et al. (2018) em um estuário maranhense, onde a grande abundância desses animais durante a estação chuvosa foi uma consequência da baixa salinidade da água nessa estação. *Alitta succinea* é comumente observada em substrato duro, conhecida como espécie predatória para os bivalves de cultivo, o que se pode inferir é que ela pode ser uma possível competidora por alimento ou mesmo comensal, necessitando ser monitorada para a obtenção de mais informações sobre os danos que pode causar no ambiente.

Petrolisthes armatus possui ocorrência do estado do Maranhão até Santa Catarina (porção oeste) e em Angola em Ilha de Ascensão (porção leste) (Melo, 1999). Entretanto, a espécie foi registrada no Atlântico Norte e Pacífico Leste. É abundante em comunidades bênticas de costões rochosos e em bancos de ostras, e também é considerado uma das espécies de crustáceo dominantes nos estuários brasileiros (Coelho, 2000). No estado do Maranhão foi identificado por Coelho e Porto (1980) em ambiente estuarino. Em ambiente de maricultura no Nordeste foi observada por Souza et al (2007) em coletores de sururu *Mytella guyanensis* no estado da Bahia. Na região sul foi registrada a ocorrência do crustáceo no cultivo do Mexilhão *Perna perna* (Macedo et al., 2012) e de Vieiras *Nodipecten nodosus* (Carraro et al., 2007) em Santa Catarina, onde foi encontrada baixa abundância da espécies contrastando com o encontrado no presente trabalho.

Os caranguejos *Sesarma* apresentam distribuição do Atlântico ocidental, Costa Rica e Brasil, no litoral do Nordeste se estendem do Maranhão a Bahia. Seus representantes são comumente encontrados em manguezais e marismas de regiões costeiras tropicais e subtropicais (Pinheiro et al., 2014). Bastante comuns nos sedimentos lodosos e sobre as árvores de manguezais, também são encontrados dentro de conchas vazias de moluscos, e em cavernas (Schubart et al., 2010).

A espécie foi registrada para o Maranhão ocorrendo nos Igarapés Tronco e Buenos Aires, baía de São Marcos, apresentando 75 e 50% de frequência e abundância absoluta de nove indivíduos que representaram 1,89% da população (Sousa et al., 2015). Os dados encontrados pelos autores obtiveram diferença do encontrado no presente trabalho. Já Silva e Almeida (2002) observaram resultados próximos ao presente trabalho em um estuário na Baía de São José encontrando abundância de 42 indivíduos. Decápodos

desse gênero são pouco relatados em cultivos de moluscos bivalves no Brasil, no entanto, acredita-se que sua presença nos cultivos de moluscos pode estar atrelada a sua ocorrência natural nos manguezais. Quanto às relações ecológicas entre a espécie *S. crassipes* e bivalves cultivados há uma lacuna no conhecimento, necessitando de estudos mais aprofundados a fim de determinar tais relações.

CONSIDERAÇÕES

Os resultados apresentados são de grande importância para a compreensão da composição da fauna bêntica associada ao cultivo de ostras em Primeira Cruz, MA. Estes, propiciaram o entendimento das relações ecológicas entre as espécies e o ambiente e suas implicações na ostreicultura. Dos táxons observados os considerados mais prejudiciais às ostras foram o caramujo *S. haemastoma* e as cracas *A. amphitrite* e *A. venustus*, pois afetam a sobrevivência e o crescimento das ostras, devido à predação e competição por alimento, respectivamente. O monitoramento e técnicas de manejo que diminuam e/ou eliminem espécies predadoras e competidoras, são imprescindíveis para o desenvolvimento da ostreicultura maranhense.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Programa de Pós Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da pesquisa e a todos que auxiliaram na execução desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ACHITUV, Y. 1984. Cirripedes of the mangal ecosystem with emphasis on the hard bottom mangal of Sinai. EM: (eds) POR FD E DOR I. Hydrobiology of the mangal, Boston, p.71-78.
- AMARAL ACZ, NALLIN SAH, STEINER TM, FORRONI TO, GOMES-FILHO D, 2012. Catálogo das espécies de Annelida Polychaeta do Brasil.
- BARREIROS JP E TEVES M, 2005. The sunfish *Mola mola* as an attachment surface for the lepadid cirriped *Lepas anatifera* — a previously unreported association. Journ Ichth aquat Biol, 10: 1-4.
- BOEHS G, E MAGALHÃES ARM, 2004. Simbiontes associados com *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na Ilha de Santa Catarina e região continental adjacente, Santa Catarina, Brasil. Rev Bras Zool, 21 (4): 865–869.
- CARRARO JL, VÉRAS E, KASPER G, RUPP GS, LERNER CB E WURDIG N. L. 2007. Macroinvertebrados bentônicos formadores de biofouling em vieiras *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (Mollusca, Pectinidae) cultivadas em Santa Catarina, Brazil: Resultados iniciais. EM: XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar - XII COLACMAR. Florianópolis, 15 a 19 de abril de 2007.
- CARVER CE, CHISHOLM AE MALLETT AL, 2003. Strategies to mitigate the impact of *Ciona intestinalis* (L.) biofouling on shellfish production. J Shell Resh 22: 621–631.
- CLAREMONT M, WILLIAMS ST, BARRACLOUGH TG E REID DG, 2011. The geographic scale of speciation in marine snail with dispersal potential. J Biogeography 38: 1016-1032.
- COELHO PA, 2000. Carcinofauna. In: BARROS HM, ESKINAZI-LEÇA E, MACEDO SJ AND LIMA L (Eds), Gerenciamento participativo de estuários e manguezais, Recife: Editora Universitária da UFPE, Recife, Brasil, p. 119-142.
- COELHO PA E PORTO RM, 1980. Crustáceos decápodos da costa do Maranhão, Brasil. Bol Inst Oceanog, 29:135-138.
- CORREIA MD, 1998. Fauna associada a troncos de madeira no complexo estuarino-lagunar Mundaú-Manguaba, Alagoas-Brasil. Bol Estud Ciênc Mar, (10):45-64.

CUTRIM AST, SOUSA LKS, RIBEIRO RP, OLIVEIRA VM, ALMEIDA ZS, 2018. Structure of a Polychaete Community in a Mangrove in the Northern Coast of Brazil. *Acta biol Colomb* 23(3): 286-294.

CUTRIM AST, 2017. Composição e Distribuição da Bacrofauna Bêntica da Região Entremarés da Raposa, Maranhão, Brasil. 2017. (Dissertação) Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 77 p.

DAY JW, HALL CAS, KEMP WM E YÁÑES-ARANCIBIA A, 1989. Zooplankton, the drifting consumers EM: DAY JW, HALL CAS, KEMP WM E YÁÑES-ARANCIBIA A. (eds) *Estuarine ecology*. New York, p. 311 – 337.

DAJOZ R, 1973. *Ecologia geral*. Editora da USP, 474p.

FARRAPEIRA CMR, 2008. Cirripedia Balanomorpha del estuario del río Paripe (Isla de Itamaracá-Pernambuco-Brasil). *Biota Neotrop* ,8 (3) 031-039.

FARRAPEIRA CMR, 2010. Records of Goose Barnacles (Cirripedia, Lepadidae) in the Northeast Brazilian Region. *Rev Nord Zool*, 4(1):5-23.

FARRAPEIRA CMR, MELO AVOM, BARBOSA DF E SILVA KME, 2007. Ship hull fouling in the Port of Recife, Pernambuco. *Braz J Oceano*, São Paulo, 55 (3): 207-221.

FARRAPEIRA CMR, 2006. Barnacles (Cirripedia Balanomorpha) of the estuarine region of Recife, Pernambuco, Brazil. *Trop. Oceanogr*, 34(2):100-119.

FITRIDGE I, DEMPSTER T, GUENTHER J E DE NYS R, 2012. The impact and control of biofouling in marine aquaculture. *rev Biof*, 28(7):649-69.

FUNO ICSA, 2016. Avaliação de parâmetros produtivos e biológicos da ostra nativa *Crassostrea gasar* (ADANSON, 1757) como subsídio ao desenvolvimento da ostreicultura em ambientes estuarinos do Estado do Maranhão. 2016, (Tese) Doutorado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 120p.

FUNO ICSA, ANTONIO IG, MARINHO YF, GÁLVEZ AO, 2015. Influência da Salinidade Sobre a Sobrevivência e Crescimento de *Crassostrea gasar*. *Bol Inst Pesca*, São Paulo, 41(4): 837 – 847.

GARTON DW E STICKLE WB, 1980. Effects of salinity and temperature on the predation rate of *Thais Haemastoma* on *Crassostrea virginica* spat. *Biol. Bull*, 158: 49–57.

GELI VC, ROMA RPCR, MARQUES HLA, NOVAIS ABG, RODRIGUES VCS, 2005. Influência do manejo da limpeza do fouling no crescimento e sobrevivência da vieira *Nodipecten nodosus* cultivada em águas rasas no litoral de Ubatuba (SP). Anais do XIX Encontro Brasileiro de Malacologia, Rio de Janeiro, Brasil, p.407.

GIL G, BERGONCI PEA, TARASCONI JC E THOMÉ JW, 2010. As Conchas de nossas praias. 2 Ed. Redes. 223p.

HAIMOVICI M, PEREZ, JAA E DOS SANTOS, ERA, 1994. SEASHELLS OF BRAZIL, 2nd Edition, E C Rios: Editora FURG, Rio Grande, 492p.

HINOJOSA I, BOLTANA S, LANCELOTTI D, MACAYA E, UGALDE P, VALDIVIA N, VASQUEZ N, NEWMAN, WA E THIEL M, 2006. Geographic distribution and description of four pelagic barnacles along the south east Pacific coast of Chile — a zoogeographical approximation. Rev Chilena Hist nat, 79: 13-27.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/primeira-cruz/panorama>> Acesso em: 07/06/2018.

LODEIROS CJ, MAEDA-MARTINEZ AN, FREITES L, URIBE E, LUCHCOTA DB, SICARD MT, 2001. Ecophysiology of scallops from Iberoamerica. EM MAEDA-MARTINEZ AN (Ed). Los Moluscos Pectinidos de Iberoamérica: Ciência y Acuicultura. Editorial LIMUSA, Mexico, Mexico, p.77-88.

LOPES RGPS, ANTONIO ÍG, TCHAIKA L, BARROS MC, FRAGA E, 2018. Molecular Identification of Native Oysters on the Coast of Maranhão, Brazil. Bol Inst Pesca, 44(4): e377.

LIU LL, FOLTZ DW E STICKLE WB, 1991. Genetic population structure of the southern oyster drill *Stramonita (=Thais) haemastoma*. Mar. Biol., 111: 71-79.

MACEDO PPB, MASUNARI S E CORBETTA R, 2012. Crustáceos decápodos associados às cordas de cultivo do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae) na Enseada da Armação do Itapocoroy, Penha – SC. Biota Neotrop, 12(2): 185-195.

MANZONI GC E LACAVA LA. 1998. Crescimento do gastrópodes *Thais (Stramonita) haemastoma* e *Cymatium parthenopeum parthenopeum* em cultivo experimental na Enseada da Armação do Itapocoróy (26°47'S - 48°36'W)(Penha - SC). Notas téc. FACIMAR 2: 167-173.

MELO GAS, 1999. Manual de identificação dos Crustacea Decapoda do litoral brasileiro: Anomura, Thalassinidea, Palinuridea Astacidea. São Paulo: Plêiade/Fapesp, 551 p.

MOCHEL FR, 1997. Mangroves on São Luís Island, Maranhão, Brazil. EM: (Org.) KJERFVE B, LACERDA LD E DIOP EHS. Mangrove ecosystem studies in Latin America and Africa, Paris: Unesco.

MONTELES JS, FUNO ICA, CASTRO ACL, 2010. Caracterização da Pesca Artesanal nos Municípios de Humberto de Campos e Primeira Cruz-Maranhão. Bol Lab Hidrobiol, 23:65-74.

NEVES RAF E VALENTIM JL, 2011. Revisão bibliográfica sobre a macrofauna bentônica de fundos não-consolidados, em áreas costeiras prioritárias para conservação no Brasil. Arq Ciên do Mar, Fortaleza 44(3): 59 – 80.

NEVES LP, DA SILVA PR E BEMVENUTI CE, 2007. Zonation of benthic macrofauna on Cassino Beach, southernmost Brazil. Brazilian Journal of Oceanography, 55 (4).

NUNES JLS E MENDONÇA MA, 2013. Biodiversidade Marinha da Ilha do Maranhão. EDUFMA, 208 p.

OLIVEIRA VM E MOCHEL FR, 1999. Macroendofauna bêmica de substratos móveis de um manguezal sob impacto das atividades humanas no Sudoeste da ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. Bol Lab Hidrobiol, 12: 75-93.

PAIVA PC, YOUNG, PS E ECHEVERRÍA CA, 2007. Rocas Atoll, Brazil: A preliminary survey of the Crustacea and Polychaete fauna. Arq Mus Nac Rio de Janeiro, 65 (3): 241-250.

PEREIRA OM, HERNRIQUE MB, MACHADO IC, 2003. Estimativa da curva de crescimento da ostra *Crassostrea brasiliiana* em bosque de mangue e proposta para sua extração ordenada no estuário de Cananéia, SP, Brasil. Bol Inst Pesca, 29 (1):19-28.

PINHEIRO MAA, SANTANA W, ROCHA SS, LEME MHA, BOOS H, REIGADA AD E COELHO P, 2016. Avaliação Caranguejos Sesarmídeos (Decapoda: Brachyura). EM: (Org.) PINHEIRO M. E BOOS H. Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014. Porto Alegre, 400- 411.

PIT JH E SOUTHGATE PC, 2003. Fouling and predation; how do they affect growth and survival of the blacklip pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, during nursery culture? 11: 545–555.

RAMOS RS, CASTRO ACL, 2004. Monitoramento das variáveis físico químicas no cultivo de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1928) no estuário Paquatua- Alcântara, MA, Brasil. Bol Lab de Hidrobiol. 17: 19-27.

RAMSAY A, DAVIDSON J, LANDRY T E ARSENAULT G, 2008. Process of invasiveness among exotic tunicates in Prince Edward Island, Canada. Biol Invas 10: 1311–1316.

RILOV G, BENAYAH UY, E GASITH A, 2001. Low abundance and skewed population structure of the whelk *Stramonita haemastoma* along the Israeli Mediterranean coast. Mar Ecol Prog Ser, 218: 189-202.

ROLLER RA E STICKLE WB, 1989. Temperature and salinity effects on the intracapsular development, metabolic rates, and survival to hatching of *Thyas haemastoma canaliculata* (gray)(Prosobranchia: Muricidae) under laboratory conditions. J Exp Mar Biol Ecol, 23: 235–251.

ROMA RPCR, MARQUES HLA, BUENO RS, 2009. Controle biológico de organismos incrustantes em um cultivo de vieiras *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) em Ubatuba, SP, Brasil. Rev Biotemas, 22(4): 107-115.

ROSA FILHO JS E AVIZ D, 2013. Macrobenthic communities of an Amazonian estuary (Guajará Bay, Brazil): temporal and spatial changes. J Coast Res, 65(1): 123-128.

SCHUBART CD, WEIL T, STENDERUP JT, CRANDALL KA E SANTL T, 2010. Ongoing phenotypic and genotypic diversification in adaptively radiated freshwater crabs from Jamaica. In: (ed.) M. GLAUBRECHT. Evolution in Action - Adaptive Radiations and the Origins of Biodiversity, 323-349.

SILVA AF, FRANKLIN-JÚNIOR W, ROCHA-BARREIRA CA, 2017. Variação em Pequena Escala da Macrofauna Bentônica em uma Planície de Maré do Estuário do rio Pacoti - Ceará, Brasil. Arq Ciên Mar, Fortaleza, 50(1): 107 – 123.

SILVA ER E EUGÊNIO WS, 1998. Taxonomia e distribuição dos cirripédios da Ilha de São Luís - MA. Universidade Federal do Maranhão. São Luís, Monografia, 52 p.

SILVA JRR E ALMEIDA ZS, 2002. Zoneamento vertical dos crustáceos bentônicos em substratos inconsolidados do manguezal do quebrapote na Ilha de São Luís, Maranhão – Brasil. Boletim Técnico- Científico CEPENE 10: 125-143.

SOUSA DB, SANTOS NB, OLIVEIRA VM, CARVALHO-NETA RNF E ALMEIDA ZS, 2015, Carcinofauna bêmica estuarina de dois manguezais da costa amazônica maranhense, Brasil. Iher Sér Zool, Porto Alegre, 105(3):339-347.

SOUSA FR 2004. Avaliação da taxa de crescimento de *Mytella falcata* (Orbigny, 1846) em sistema de travesseiros no povoado de Paquatua, Município de Alcântara-MA, 42 p. (Monografia, Universidade Estadual do Maranhão).

SOUZA GBG, PASSOS GM, BOEHS G, 2007. Macrofauna Incrustante em coletores de sururu (*MYTELLA GUYANENSIS*) na Ilha do Tanque, Península de Maraú (BA). EM: Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu – MG.

URIBE E, LODEIROS CJ, FÉLIX-PICO E, 2001 Etchepare, I. Fouling in Ibero Americans callop. EM (Ed) MAEDA-MARTINEZ AN. Los Moluscos Pectinidos de Iberoamérica: Ciência y Acuicultura. Editorial LIMUSA, Mexico, Mexico, p.246-266.

VILLALOBOS-GUERRERO TF, 2012. Ficha técnica y Análisis de riesgo de *Alitta succinea* (Leuckart in Frey e Leuckart, 1847)(Polychaeta: Nereididae) EM: LOW-PFENG AM E RECAGNO P. Invertebrados Marinos exóticos en el Pacífico mexicano, Geomare, AC, Ine- Semarnat, México, p. 131-165.

WEISBORD NE, 1979. Lepadomorph and Verrucomorph barnacles (Cirripedia) of Florida and adjacent waters, with an addendum on the Rhizocephala. Bull Amer Paleont, Ithaca, 76 (306): 1-156.

YOUNG PS, 2007. Cirripedia (Crustacea) from Rocas Atoll. Arq Mus Nac Rio de Janeiro, 65(3): 251-257.

YOUNG PS, 1990. Lepadomorph cirripeds from Brazilian coast. I: Families Lepadidae, Poecilasmataidae and Heteralepadidae. Bul Mar Scien, Miami, 47 (3): 641-655.

YOUNG PS E SEREJO C, 2005. List of crustacean species recorded from the Abrolhos region (including the nearby coast) indicating habitat, range within Brazil, and general distribution. EM: DUTRA GF, ALLEN GR, WERNER T E MCKENNA SA (Ed). A rapid marine biodiversity assessment of the Abrolhos Bank, Bahia, Brazil. Washington, Conservation International, p. 137-156.

YSEBAERT T, HART M HERMAN PMJ, 2009. Impacts of bottom and suspended cultures of mussels *Mytilus* spp. on the surrounding sedimentary environment and macrobenthic biodiversity. Helgol Mar Res, 63:59–74.

YSEBAERT T, HERMAN PMJ, MEIRE P, CRAEYMEERSCH J, VERBEEK H E HEIP CHR, 2003. Large-scale spatial patterns in estuaries: estuarine macrobenthic communities in the Schelde estuary, NW Europe. *Estuar Coast Shelf Sci*, 57: 335-355.

Anais da Academia Brasileira de Ciências- Instrução aos autores

A revista **ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS** encoraja fortemente as submissões online. Uma vez o artigo preparado de acordo com as instruções abaixo, visite o site de submissão online (<http://aabc.abc.org.br>).

As instruções devem ser lidas cuidadosamente e seguidas integralmente. Desta forma, a avaliação e publicação de seu artigo poderão ser feitas com mais eficiência e rapidez. Os editores reservam-se o direito de devolver artigos que não estejam de acordo com estas instruções. Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

OBJETIVO E POLÍTICA EDITORIAL

Todos os artigos submetidos devem conter pesquisa original e ainda não publicada ou submetida para publicação. O primeiro critério para aceitação é a qualidade científica. O uso excessivo de abreviaturas ou jargões deve ser evitado, e os artigos devem ser compreensíveis para uma audiência tão vasta quanto possível. Atenção especial deve ser dada ao Abstract, Introdução e Discussão, que devem nitidamente chamar a atenção para a novidade e importância dos dados relatados. A não observância desta recomendação poderá resultar em demora na publicação ou na recusa do artigo.

Os textos podem ser publicados como uma revisão, um artigo ou como uma breve comunicação. A revista é trimestral, sendo publicada nos meses de março, junho, setembro e dezembro.

TIPOS DE TRABALHOS

Revisões. Revisões são publicadas somente a convite. Entretanto, uma revisão pode ser submetida na forma de breve carta ao Editor a qualquer tempo. A carta deve informar os tópicos e autores da revisão proposta e declarar a razão do interesse particular do assunto para a área.

Artigos. Sempre que possível, os artigos devem ser subdivididos nas seguintes partes: 1. Página de rosto; 2. Abstract (escrito em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); 3. Introdução; 4. Materiais e Métodos; 5. Resultados; 6. Discussão; 7. Agradecimentos quando necessário; 8. Resumo e palavras-chave (em português - os autores estrangeiros receberão assistência); 9. Referências. Artigos de algumas áreas, como Ciências Matemáticas, devem observar seu formato usual. Em certos casos pode ser aconselhável omitir a parte (4) e reunir as partes (5) e (6). Onde se aplicar, a parte de Materiais e Métodos deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em humanos ou as

normas seguidas para a manutenção e os tratamentos experimentais em animais.

Breves comunicações

Breves comunicações devem ser enviadas em espaço duplo. Depois da aprovação não serão permitidas alterações no artigo, a fim de que somente correções de erros tipográficos sejam feitos nas provas.

Os autores devem enviar seus artigos somente em versão eletrônica.

Preparação de originais

PREPARO DOS ARTIGOS

Os artigos devem ser preparados em espaço duplo. Depois de aceitos nenhuma modificação será realizada, para que nas provas haja somente correção de erros tipográficos.

Tamanho dos artigos. Embora os artigos possam ter o tamanho necessário para a apresentação concisa e discussão dos dados, artigos sucintos e cuidadosamente preparados têm preferência tanto em termos de impacto quando na sua facilidade de leitura.

Tabelas e ilustrações. Somente ilustrações de alta qualidade serão aceitas. Todas as ilustrações serão consideradas como figuras, inclusive desenhos, gráficos, mapas, fotografias e tabelas com mais de 12 colunas ou mais de 24 linhas (máximo de figuras gratuitas: cinco figuras). A localização provável das figuras no artigo deve ser indicada.

Figuras digitalizadas. As figuras devem ser enviadas de acordo com as seguintes especificações: 1. Desenhos e ilustrações devem ser em formato .PS/.EPS ou .CDR (Postscript ou Corel Draw) e nunca inseridas no texto; 2. Imagens ou figuras em meio tom devem ser no formato .TIF e nunca inseridas no texto; 3. Cada figura deve ser enviada em arquivo separado; 4. Em princípio, as figuras devem ser submetidas no tamanho em que devem aparecer na revista, i.e., largura de 8 cm (uma coluna) ou 12,6 cm (duas colunas) e com altura máxima para cada figura menor ou igual a 22 cm. As legendas das figuras devem ser enviadas em espaço duplo e em folha separada. Cada dimensão linear das menores letras e símbolos não deve ser menor que 2 mm depois da redução. Somente figuras em preto e branco serão aceitas. 5. Artigos de Matemática, Física ou Química podem ser digitados em Tex, AMS-Tex ou Latex; 6. Artigos sem fórmulas matemáticas podem ser enviados em .RTF ou em WORD para Windows.

Página de rosto. A página de rosto deve conter os seguintes itens: 1. Título do artigo (o título deve ser curto, específico e informativo); 2. Nome (s) completo (s) do (s) autor (es); 3. Endereço profissional de cada autor; 4. Palavras-chave (4 a 6 palavras, em ordem alfabética); 5. Título abreviado (até 50 letras); 6. Seção da Academia na qual se enquadra o artigo; 7. Indicação do nome, endereço, números de fax, telefone e endereço eletrônico do autor a quem deve ser endereçada toda correspondência e prova do artigo.

Agradecimentos. Devem ser inseridos no final do texto. Agradecimentos pessoais devem preceder os agradecimentos a instituições ou agências. Notas de rodapé devem ser evitadas; quando necessário, devem ser numeradas. Agradecimentos a auxílios ou bolsas, assim como agradecimentos à colaboração de colegas, bem como menção à origem de um artigo (e.g. teses) devem ser indicados nesta seção.

Abreviaturas. As abreviaturas devem ser definidas em sua primeira ocorrência no texto, exceto no caso de abreviaturas padrão e oficial. Unidades e seus símbolos devem estar de acordo com os aprovados pela ABNT ou pelo Bureau International des Poids et Mesures (SI).

Referências. Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. Artigos publicados e aceitos para publicação (no prelo) podem ser incluídos. Comunicações pessoais devem ser autorizadas por escrito pelas pessoas envolvidas. Referências a teses, abstracts de reuniões, simpósios (não publicados em revistas indexadas) e artigos em preparo ou submetidos mas ainda não aceitos, podem ser citados no texto como (Smith et al. unpublished data) e não devem ser incluídos na lista de referências.

As referências devem ser citadas no texto como, por exemplo, (Smith 2004), (Smith and Wesson 2005) ou, para três ou mais autores, (Smith et al. 2006). Dois ou mais artigos do mesmo autor no mesmo ano devem ser distinguidos por letras, e.g. (Smith 2004a), (Smith 2004b) etc. Artigos com três ou mais autores com o mesmo primeiro autor e ano de publicação também devem ser distinguidos por letras.

As referências devem ser listadas em ordem alfabética do primeiro autor sempre na ordem do sobrenome XY no qual X e Y são as iniciais. Se houver mais de 10 autores, use o primeiro seguido de et al. As referências devem ter o nome do artigo. Os nomes das revistas devem ser abreviados. Para as abreviações corretas, consultar a listagem de base de dados na qual a revista é indexada ou consulte a World List of Scientific Periodicals. A abreviatura para os Anais da Academia Brasileira de Ciências é An Acad Bras Cienc. Os seguintes exemplos são considerados como guia geral para as referências.

Artigos

ALBE-FESSARD D, CONDES-LARA M, SANDERSON P AND LEVANTE A. 1984a. Tentative explanation of the special role played by the áreas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. *Adv Pain Res Ther* 6: 167-182.

ALBE-FESSARD D, SANDERSON P, CONDES-LARA M, DELANDSHEER E, GIUFFRIDA R AND CESARO P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. *An Acad Bras Cienc* 56: 371-383.

KNOWLES RG AND MONCADA S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

PINTO ID AND SANGUINETTI YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-

215.

Livros e Capítulos de Livros

DAVIES M. 1947. An outline of the development of Science, Athinker's Library, n. 120. London: Watts, 214 p.

PREHN RT. 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: NATIONAL CANCER CONFERENCE, 5, Philadelphia Proceedings, Philadelphia: J.B. Lippincott, p. 97-104.

UYTENBOGAARDT W AND BURKE EAJ. 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

WOODY RW. 1974. Studies of theoretical circular dichroism of Polipeptides: contributions of B-turns. In: BLOUTS ER ET AL. (Eds), Peptides, polypeptides and proteins, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.

Outras Publicações

INTERNATIONAL KIMBERLITE CONFERENCE, 5, 1991. Araxá, Brazil. Proceedings ... Rio de Janeiro: CPRM, 1994, 495 p.

SIATYCKI J. 1985. Dynamics of Classical Fields. University of Calgary, Department of Mathematics and Statistics, 55 p. Preprint n. 600.

6. CONCLUSÃO GERAL

- O ambiente do cultivo de ostras em Primeira Cruz, Maranhão, encontra-se propício ao cultivo de ostras, nos âmbitos bacteriológicos da água e das ostras e essa se encontrou própria para o consumo segundo legislação sanitária vigente.
- Os parasitos encontrados não comprometeram a sobrevivência da população, mas, a sua identificação foi importante para subsidiar medidas de manejo da produção.
- Foi possível a identificação da fauna associada às ostras cultivadas e dessas foram identificados animais possivelmente prejudiciais ao cultivo.
- Todas as análises realizadas mostraram a situação favorável do ambiente à ostreicultura, auxiliando na obtenção de medidas de manejo a essa atividade em estuários do Maranhão.

REFERENCIAS

APHA, American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APH, AWWA, WEF. 22 nd Edition. 1120p, 2012.

ARAUJO, M. L. R.; ROCHA-BARREIRA, C. A. Occurrence of *Bucephalus* sp. (Tremadoda Bucephalidae) in *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Veneriidae) at Canto da Barra beach, Fortim, Ceará state, Brazil. *Arquivo de Ciências do Mar*, Fortaleza, v. 37, p. 35,37, 2004.

Austin B. Bacteria pathogens of marine fish. In: Oceans and Health: Pathogens in the

Marine Environment. 2005. p. 391–413.

AUSTIN B. Vibrios as causal agents of zoonoses. *Vet. Microbiol.* v. 140, p. 310-317, 2009.

AZEVEDO, C.; CACHOLA, R. Fine structure of the Apicomplexa oocyst of *Nematopsis* sp. of two marine bivalve molluscs. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 14, n. 1, p. 69-73, 1992. <http://dx.doi.org/10.3354/dao014069>

BAM- Bacteriological Analytical Manual. 8th Edition. 1998. Disponível em <<https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm#intro>> Acessado em 29/08/2018.

BARON, E. J.; L. R. PETERSON.; S. M. FINEGOLD.. *Vibrio* and related species, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, and others. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO, p. 429-444, 1994.

BAUMANN, P.; SCHUBERT, R.H.W. Family II: Vibrionaceae. In: KRIEG N.R. e HOLT J.G. (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, p.516-550, 1984.

BOEHS, G.; MAGALHÃES, A. R.M.; SABRY, R. C.; CEUTA, L. O. Parasitos e patologias bivalves marinhos de importância econômica da costa brasileira. In: S. de S, A.T.; Lizama, M.L.A.; Takemoto, R. *Patologia e sanidade de organismos aquáticos*. Maringá: ABRAPOA, p. 165-194, 2012.

BOEHS, G.; VILLALBA, A.; CEUTA, L. O.; LUZ, Jr. Parasites of three commercially exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira River (Ilhéus, Bahia, Brazil). *Journal of Invertebrate Pathology*, v.103, p. 43-47, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2009.10.008>

BOEHS, G.; LENZ, T. M.; VILLALBA, A. Xenomas in *Crassostrea rhizophorae* (Ostreidae) from Camamu Bay, Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 69, n. 2, p. 457-458, 2009.

BOWER, S. M.; MCCGLADDER, S.; E.; PRICE, I. M. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish. *Annual Review of Fish Diseases* n.4, p. 1-199, 1994.

BRANDÃO, R. P.; BOEHS, G.; DA SILVA, P. M. Health assessment of the oyster *Crassostrea rhizophorae* on the southern coast of Bahia, northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária. Jaboticabal*, v. 22, n. 1, p. 84-91, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária -ANVISA. *Resolução - RDC n.12, de 2 de janeiro de 2001.Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

Disponível em:
http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acessado em 31/08/2018. Acessado em: 08/08/2018.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a qualidade dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamentos de efluentes e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 17 mar. 2005. n. 53, Sec. 1, p. 58-63. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acessado em: 31/08/2018.

BUSH A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*; v. 83, n. 4, p. 575-583, 1997. <http://dx.doi.org/10.2307/3284227>

CABRERA-GARCIA, M. E.; VASQUEZ-SALINAS, C.; QUINONES-RAMIREZ, E. I. Serologic and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from seawater and fish products of Gulf of Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 70, n. 11, p.6401-6406, 2004.

CARBALLAL, MJ.; IGLESIAS, D.; SANTAMARINA, J.; FERROSOTO, B.; VILLALBA, A., Parasites and pathologic conditions of the cockle *Cerastoderma edule* populations of the Coast of Galicia (NW Spain). *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 78, p. 87-97. 2001. <http://dx.doi.org/10.1006/jjpa.2001.5049>

CEUTA, L. O.; BOEHS, G. Parasites of the mangrove mussel *Mytella guyanensis* (Bivalvia: Mytilidae) in Camamu Bay, Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 72,n.3, p. 421-427, 2012.

CHENG, T.C. *Parasitología General*. 2. ed. Madrid: Editorial AC. 965 p, 1978.

CODEX ALIMENTARIUS (CODEX). *Standard for live and raw bivalve molluscus*. Codex Standard, p. 1-7,2008.

COSTA, R. A. *Escherichia coli* in seafood: a brief overview *Adv. Bioscience. and Biotechnology.*, v. 4, p. 450-454, 2013.

COVA , A. W.; SERAFIM JÚNIOR, M.; BOEHS, G.; SOUZA, J. M. Parasites in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* cultivated in the estuary of the Graciosa River in Taperoá, Bahia. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*. Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 21-27, 2015.

CREMONTE, F.; FIGUERAS, A.; BURRESON, E. M. A histopathological survey of some commercially exploited bivalve molluscs in northern Patagonia, Argentina. *Aquaculture*, v. 249, p. 23-33, 2005.

DAME, R. F. Organismic Level process. In: Ecology of Marine bivalves: na ecosystem approach. New York. Cap. 3, p.35-74, 1996.

DA SILVA, L.; PARVEEN, S.; DEPAOLA, A.; BOWERS, J., BROHAWN, K.; TAMPLIN, M.L. Development and validation of a predictive model for the growth of *Vibrio vulnificus* in postharvest shellstock oysters. *Applied and Environmental Microbiology*. v.78, p. 1675-1681, 2012.

DA SILVA, P.M.; MAGALHÃES, A.R.M.; BARRACCO, M.A. Effects of *Bucephalus* sp. (Trematoda: Bucephalidae) on *Perna perna* mussels from a culture station in Ratonas Grande Island, Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 79, p. 154-162, 2002.

DOI, S. A.; FERNANDE, A. J.C. O.; BARBIERI, E. Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. *Engenharia Sanitária Ambiental*, n.20, v.1, p.111-118, 2015. Doi: 10.1590/S1413-41522015020000125658.

DOWNES, K. e ITO Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4.ed. Washington, DC: American Public Health Association, p. 405–420, 2001.

FARRAPEIRA C.M. R. Cirripedia Balanomorpha del estuario del río Paripe (Isla de Itamaracá-Pernambuco-Brasil). *Biota Neotropica*. n.8, v.3, p. 031-039, 2008.

FERREIRA, L.P.; SABRY, R.C.; DA SILVA, P.M.; ROMÃO, L.S.; ARAÚJO, R. L.; SILVEIRA, F.F.; GESTEIRA, T.C.V. Ocorrência de parasitas em *Anomaalocardia brasiliiana* (Bivalvia: Veneridae) do Estuário do Rio Pacoti, Ceará. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, v. 10, p.17-20, 2008. Búzios, RJ, Resumos... Associação Brasileira de Patologistas de Organismos Aquáticos.

FROELICH, E.M. e CARBAYO, F. Catálogo dos “Turbellaria” (Platyhelminthes) do Estado de São Paulo. *Biota Neotropica*, v. 11, p. 503-514, 2011.

FUENZALIDA, L.; ARMJO, L.; ZABALA, B.; HERNÁNDEZ, C.; RIOSECO, M.L.; RIQUELME, C.; ESPEJO, R.T. *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated during investigation of the summer sea food related diarrhea outbreaks in two regions of Chile. *International Journal of Food Microbiology*, v. 117, n. 3, p. 279-275, 2006.

GELI, V.C.; ROMA, R.P.C.R.; MARQUES, H.L.A.; NOVAIS, A.B.G.; RODRIGUES, V.C.S. Influência do manejo da limpeza do fouling no crescimento e sobrevivência da vieira *Nodipecten nodosus* cultivada em águas rasas no litoral de Ubatuba (SP). Anais do XIX Encontro Brasileiro de Malacologia, Rio de Janeiro, Brasil, p.407, 2005.

GIL, G.; BERGONCI, P.E.A, TARASCONI, J.C.; THOMÉ, J.W. As Conchas de nossas praias. 2 Ed. Redes. 223p, 2010.

HAIMOVICI, M.; PEREZ, J.A.A e DOS SANTOS, E.R.A. SEASHELLS OF BRAZIL, 2nd Edition, E C Rios: Editora FURG, Rio Grande, 492p, 1994.

HOWARD, D.W.; SMITH, C. S. Histological techniques for marine bivalve mollusks. Woods Hole, Massachusetts: NOAA Technical Memorandum, 97p, 1983.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/primeira-cruz/panorama>> Acesso em: 07/06/2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ E CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA “Professor Alexandre Vranjac”. Diarréia e rotavírus. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 38, n.6, p. 844-845 2004.

IWAMOTO, M.T.; AYRES, B.E.; MAHON, D.L. Swerdlow Epidemiology of seafood-associated infections in the United States. *Clinical Microbiology Reviews*. V. 23, p. 399-411, 2010. <https://doi.org/10.1128/CMR.00059-09>

JARONI, D. *Salmonella typhi*. *Encyclopedia of Food Microbiology*, v. 3, p. 349-352, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00296-2>

JAY J.M. (ed.). *Modern Food Microbiology*.v.6. Aspen Publishers, 620p, 2000.

KAYSNER, C. A.; DEPAOLA, A. “*Vibrio*,” in *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 4th Edn, eds F. P. 85 p, 2001.

LAUCKNER, G. Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: Kinne, O. *Diseases of Marine Animals*. Hamburg: *Biologische Anstalt Helgoland*. p. 477-970, 1983.

LEWIS, M.; PRYOR, R.; WILKING, L. Fate and effect of anthropogenic chemicals in mangrove ecosystems: a review. *Environmental Pollution*, v.159, p. 2328–2346, 2011.

LIMA, F. C.; ABREU, M.G.; MESQUITA, E.F. M. Monitoramento histopatológico do Mexilhão Perna perna da Lagoa de Itaipú, Niterói, RJ. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. Vol. 53 ,n. 2, p.1-5, 2001.

LODEIROS, C. J.; MAEDA-MARTINEZ, A. N.; FREITES, L.; URIBE, E.; LUCHCOTA, D. B.; SICARD, M. T. Ecophysiology of scallops from Iberoamerica. In: MAEDA-MARTINEZ, A. N. (Ed.). *Los Moluscos Pectinidos de Iberoamérica: Ciência y Acuicultura*. Editorial LIMUSA, Mexico, Mexico, p.77-88, 2001.

LOPES, R.G.P.S.; ANTONIO, Í.G.; TCHAIKA, L.; BARROS, M.C.; FRAGA, E. 2018. Molecular Identification of Native Oysters on the Coast of Maranhão, Brazil. *Boleim do Instituto de Pesca*, vol. 44, n.4, p.377-383.

LOWE, D. M.; SALKELD, P. N.; CARR, M. R. The effect of geographical location on the cellular composition of the mantle tissue of the mussel, *Mytilus edulis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, n. 74, p.225-232, 1994. <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315400035785>

LUZ, M. S. A.; BOEHS, G. Parasites in the oyster *Crassostrea rhizophorae* form farmed and natural stocks in the Bay of Camamu, Bahia, northeastern Brazil. *Journal of parasitology and Vector Biology*, v. 7, n.6, p. 120-128, 2015.

MAGALHÃES, A.R.M. Efeito da parasitose por Trematoda Bucephalidae na reprodução, composição bioquímica e índice de condição do mexilhão *Perna perna*. 1998. (Tese de Doutorado) Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo). Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/30386636.pdf>> Acessado em: 06/07/2018.

MAGALHÃES, A.R.M.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Dados ultraestruturais do oocisto de *Nematopsis* sp. (Phylum Apicomplexa) parasita do berbigão, *Anomalocardia brasiliensis* Gmelin, 1791 (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) da região de Florianópolis, Santa Catarina. In: Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 7.; Encontro Latino Americano de Patologistas de Organismos Aquáticos, 3, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: UEM, p.191, 2002.

MALEK, J.C e BYERS, J.E. The effects of tidal elevation on parasite heterogeneity and co-infection in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, n. 494, p.32–37, 2017.

MARANHÃO. Zoneamento Costeiro do Estado do Maranhão. São Luís: Fundação Souzaândrade, DEOLI, LABOHIDRO (UFMA), Núcleo Geoambiental, 254 p, 2003.

MARTINEZ-URTAZA, J.; LOZANO-LEON, A.; DEPAOLA, A.; ISHIBASHI, M.; SHIMADA, K.; NISHIBUCHI, M.; LIEBANA, E. Characterization of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolates from clinical sources in Spain and comparison with Asian and North American pandemic isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 10, p. 4672-4679, 2004.

MATOS, E.; MATOS, P.; SANTOS, M.M.S. et al. Ação de protozoários parasitas em moluscos da Região Amazônica: *Nematopsis* sp. in: Encontro Brasileiro de Malacologia, 17.; Simpósio nordestino de Cultivo de Moluscos Bivalves, 1, Recife, Anais... Recife: UFPE, p.78, 2001.

MESSELHÄUSSER, U.; COLDITZ, J.; THÄRIGEN, D.; KLEIH, W.; HÖLLER, C.; BUSCH, U. Detection and differentiation of *Vibrio* spp. in seafood and fish samples with cultural and molecular methods. *International Journal of Food Microbiology*, v. 149, n. 3, p. 360-364, 2010.

MONTELES, J. S.; FUNO, I. C. A.; CASTRO, A. C. L. Caracterização da Pesca Artesanal nos Municípios de Humberto de Campos e Primeira Cruz-Maranhão. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, v. 23, p. 65-74, 2010.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; KOBAYASHI, G.S.; PFALLER, M.A. *Microbiologia Médica*. 4. ed., Rio de Janeiro. Editora Guanabara, 2004.

NASCIMENTO, I. A.; SMITH, D. H.; KERNIL, F.; PEREIRA, A. S. Pathological findings in *Crassostrea rhizophorae* from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 47, p. 340-349, 1986. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-2011\(86\)90105-9](http://dx.doi.org/10.1016/0022-2011(86)90105-9)

NEVES, R.A.F e VALENTIM, J.L. Revisão bibliográfica sobre a macrofauna bentônica de fundos não-consolidados, em áreas costeiras prioritárias para conservação no Brasil. *Arquivos de Ciências do Mar*, Fortaleza, v.44, n.3, p. 59 – 80, 2011.

NUNES, J.L.S e MENDONÇA, M.A. Biodiversidade Marinha da Ilha do Maranhão. EDUFMA, 208 p, 2013..

OLIVEIRA, J. B. Parasitos associados à lambreta *Lucina pectinata* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia) na região estuarina do Rio Cachoeira (Ilhéus, Bahia) (Monografia). Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz; 2008.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD – OMS. 2013. *Salmonella* (no tifoidea). [http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)) acessado em 17/08/2018.

PAGOSO, E.J.A. e RIVERA, W.L. *Cryptosporidium* species from common edible bivalves in Manila Bay, Philippines. *Marine Pollution Bulletin*, 2017.

PAILLARD, C.; LE ROUX, F.; BORREGO, J. Bacterial disease in marine bivalves, a review of recent studies: Trends and devolution. *Aquatic Living Resources*, v. 17, p. 477–498, 2004.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; SOCOLOVISHI, C.; LABUNA, M.B., MEDIANNIKOV O.; KERNIF, T.; ABDAD, M.Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P.E.; RAOULT, D. Update on Tick-Borne Rickettsioses around the World: a geographic approach *Clinical Microbiology Reviews* v.26, n.4, p.657-702, 2013.

PEREIRA, C.; MOREIRINHA, C.; TELES, L.; ROCHA, R.J.M.; CALADO, R.; ROMALDE, J.L.; NUNES, M.L.; ALMEIDA, A. Application of phage therapy during bivalve depuration improves *Escherichia coli* decontamination *Food Microbiology*, v.61, p. 102-112, 2017.

PEREIRA, M. A. et al. Qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea gigas*) produzidas e comercializadas na região litorânea de Florianópolis. *Brazilian Journal of Microbiology* v.37, n.2, p. 159-163, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822006000200012>

PEREIRA, O. M.; HERNRIQUE, M. B.; MACHADO, I. C. Estimativa da curva de crescimento da ostra *Crassostrea brasiliiana* em bosque de mangue e proposta para sua extração ordenada no estuário de Cananéia, SP, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v.29, n.1, p. 19-28, 2003.

PINTO, T. R.; BOEHS, G. *Nematopsis* sp. (Apicomplexa: Eugregarinida) em *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mytilidae) da região estuarina do Rio Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 45, p. 95-100, 2008.

PONTINHA, V.A. Diagnóstico da saúde da ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) cultivada em Florianópolis/SC. 2009. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/92942>>. Acessado em 09/07/2018.

PONTUAL, J. P. S.; FALBO, A. R.; GOUVEIA, J. S. Estudo etiológico da diarreia em crianças hospitalizadas no Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, IMIP, em Recife, Pernambuco, *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, Recife, v.6, n.1, p. 11-17, 2006.

PRUZZO, C.; GALLO, G.; CANESI, L.; Persistence of Vibrios in marine bivalves: the role of interactions with haemolymph components. *Environmental Microbiology*, v.7, p.761-772, 2005.

RAMOS, R. S.; CASTRO, A. C. L. Monitoramento das Variáveis Físico-químicas no cultivo de *Crassostrea rizophorae* (Guilding, 1928) no estuário de Paquatua-Alcântara/MA, Brasil. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, São Luís, V.17, p.19-27, 2004.

RIBEIRO, M. M.; OLIVEIRA, J. B.; BOEHS, G. Parasitism by a Digenea in *Lucina pectinata* (Mollusca: Lucinidae). *Brazilian Journal of Biology*, v. 78, n.1, p.94-97, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.07116>

RODRIGUES, S.M. A.; GONÇALVES, E. G. R.; MELLO, D. M.; OLIVEIRA, E. G.; HOFER, E. Pesquisa de bactérias do gênero *Vibrio* em feridas cutâneas de

pescadores do município de Raposa-MA. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.34, p.407-411, 2001.

ROMÃO, L. S.; FERREIRA, L.P.; MAGGIONI, R.; ARAÚJO, R. L.; GESTEIRA, T. C. V.; DA SILVA, P. M.; SABRY, R. C. Patógenos em duas espécies de bivalves comercialmente importantes do Estuário do Rio Pacoti, Estado do Ceará, Brasil. *Arquivo de Ciências do Mar*, Fortaleza, v. 47, n. 2, p.57-73, 2014.

ROMA, R.P.C.R; MARQUES, H.L.A; BUENO, R.S. Controle biológico de organismos incrustantes em um cultivo de vieiras *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) em Ubatuba, SP, Brasil. *Revista Biotemas*, v. 22, n.4, p. 107-115, 2009.

SABRY, R.C.; GESTEIRA, T. C. V.;BOEHS, G. First record of parasitism in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) at Jaguaribe River estuary – Ceará, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 67, n. 4, p. 755-758, 2007.

SABRY, R. C.; MAGALHÃES, A.R. Parasitas em ostras de cultivo (*Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 57, n.2, p.194-203, 2005.

SANTOS, C. A. M. L.; VIEIRA, R. H. S. F. Bacteriological hazards and risks associated with seafood consumption in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 55, n.4, p. 219-228, 2013.

SCARDUA, M. P.; VIANNA, R. T.; DUARTE, S. S.; FARIAS, N. D.; CORREIA, M. L. D.; SANTOS, H. T. A.; DA SILVA, P. M. Growth, mortality and susceptibility of oyster *Crassostrea* spp. To *Perkinsus* spp. infection during on growing in northeast Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology, Jaboticabal*, v. 26, n. 4, p. 401-410, 2017.

SILVA, M.P.; CAVALLI, D.R.; OLIVEIRA, T.C.R.M. Avaliação do Padrão de Coliformes a 45 °C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petri film EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 2, p. 352-359, 2006.

SOUSA, F. R. Avaliação da taxa de crescimento de *Mytella falcata* (Orbigny, 1846) em sistema de travesseiros no povoado de Paquatua, Município de Alcântara-MA. 2005, 42 p. (Monografia, Universidade Estadual do Maranhão).

SU, Y.C. e LIU, C. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of sea food safety. *Food Microbiological*, v. 24, p. 549-558, 2007.

TALL, A.; HERVIO-HEATH, D.; TEILLON, A.; BOISSET-HELBERT, C.; DELESMONT, R.; BODILIS, J.; TOURON-BODILI, A. Diversity of *Vibrio* spp. isolated at ambient environmental temperature in the Eastern English Channel as

determined by pyrH sequencing. *Journal of applied microbiology*, v. 114, n. 6, p. 1713-1724, 2013.

UMJI, S.; LUNETTA, J.E.; LEONEL, R.M.V. Infestation of the mussel *Perna perna* by digenetic trematodes of the Bucephalidae family, gen. *Bucephalus*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 47, p.115–117, 1976.

URIBE, E.; LODEIROS, C. J.; FÉLIX-PICO, E.; Etchepare, I. Fouling in Ibero Americans callop. In: (Ed.) MAEDA-MARTINEZ, A. N. Los Moluscos Pectinidos de Iberoamérica: Ciência y Acuicultura. Editorial LIMUSA, Mexico, Mexico, p.246-266, 2001.

VIEIRA, R.H.S.F.; VASCONCELOS, R. F.; CARVALHO, E. M. R. Quantificação de vibrios, de coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa (*Crassostrea rhizophorae*), e na água do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, vol.1, n.1, p. 1-13, 2007.

VIEIRA, R. H.; LIMA, E. A.; SOUSA, D. B. REIS, E. F.; COSTA, R. G.; RODRIGUES, D. P. *Vibrio* spp. and *Salmonella* spp. presence and susceptibility in crabs *Ucides cordatus*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 179-182, 2004.

VILLALBA, A. Patología de moluscos bivalvos. In: Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 7.; Encontro Latino Americano de Patologistas de Organismos Aquáticos, 3., Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: UEM, p.201, 2002.

WANG, F.; JIANG, L.; YANG, Q.; HAN, F.; CHEN, S.; PU, S.; VANCE, A.; GE, B. Prevalence and antimicrobial susceptibility of major food borne pathogens in imported sea food. *Journal of Food Protection*, n.74, p.1451–1461, 2011.

WINSTEAD J.T.; VOLETY, A.K.; TOLLEY, S.G. Parasitic and symbiotic fauna in oyster (*Crassostrea virginica*) collected from the Caloosahatchee River and Estuary in Florida. *J. Shellf. Res.*, v. 23, n. 3, p. 831-840, 2004.

ZEIDAN, G. C.; LUZ, M. S. A.; BOEHS G. Parasites of economically important bivalves from the southern coast of Bahia State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. v, 72, n.3, p.421-427, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612012000400009>

ZHAO, S.; WHITE, D.G.; FRIDMAN, S.L.; GLENN, A.; BLICKENSTAFF, K.; AYERS, S.L.; ABBOTT, J.W.; HALL-ROBINSON, E.; MCDERMOTT, P.F. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolates from retail meats, including poultry, from 2002 to 2006. *Applied Environmental Microbiology*, v.74, n.21, p.6656-6662, 2008.

ZHANG, J.; YANG, X.; KUANG, D.; SHI, X.; XIAO, W. ZHANG, J.; GU, Z.; XU, X.; MENG, J. Prevalence of antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella* serovars in retail aquaculture products. *International Journal of Food Microbiology*. n. 1, v. 210, 2015. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.019