

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**PARASITOS NA OSTRADO-MANGUE *Crassostrea rhizophorae*
(GUILDING, 1828) CULTIVADA NO ESTUÁRIO DO RIO GRACIOSA
EM TAPEROÁ, BAHIA**

ALIANE WATANABE COVA

**CRUZ DAS ALMAS – BA
AGOSTO – 2013**

**PARASITOS NA OSTRADO-MANGUE *Crassostrea rhizophorae*
(GUILDING, 1828) CULTIVADA NO ESTUÁRIO DO RIO GRACIOSA
EM TAPEROÁ, BAHIA**

ALIANE WATANABE COVA

Engenheira de pesca
Universidade do Estado da Bahia, 2010

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Moacyr Serafim Júnior

Coorientadora: Prof. Dra. Guisla Boehs

CRUZ DAS ALMAS – BA

AGOSTO - 2013

FICHA CATALOGRÁFICA

C873

Cova, Aliane Watanabe.

Parasitos na ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) cultivada no estuário do Rio Graciosa em Taperoá, Bahia / Aliane Watanabe Cova._ Cruz das Almas, BA, 2013.

46f.; il.

Orientador: Moacyr Serafim Junior.

Coorientadora: Guisla Boehs.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Ostra – Criação. 2.Moluscos – Parasitologia.
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 639.411

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**


**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
ALIANE WATANABE COVA**



Prof. Dr. Moacyr Serafim Júnior
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
(Orientador)



Prof. Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dr. Clovis Matheus Pereira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Maria e José pela educação, possibilidade de crescer e o conhecimento concedido em toda a vida.

Ao meu noivo Jackson, por aguentar meus momentos difíceis, pela paciência, carinho, companhia e apoio.

À minhas irmãs Kasué, Alice, Alide e o meu irmão Koite, pela ajuda e apoio nos momentos difíceis mesmo estando longe.

Aos meus queridos sobrinhos – filhos: Sayuki, Sayumi, João Vitor, Bibi e Lucas pela alegria das brincadeiras e curiosidades.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Moacyr Serafim Júnior e Prof. Dra. Guisla Boehs.

Aos professores: Tâmara de Almeida e Silva, Ana Karina da Silva Cavalcante, Elinsmar Vitoria Adorno, Carla Fernandes Macedo e Clovis Matheus Pereira.

Aos meus amigos pelos grandes momentos Sandra Soares, André Bandeira, Liliam Faleta, Jucimara Oliveira, Eliza Guedes, Ana Daltro, Alisson Matos, D. Clarice, Beatriz Brito, Isabella Fernandes, Fábio Marques e aos demais colegas da UFRB.

Ao Sr. Domingos, por ter confiado seu cultivo de ostras aos nossos estudos.

Aos grandes mestres e amigos da CEPLAC Antônio Jorge Silva de Menezes, Elisio Muniz e Waldo Britto.

À FAPESB pela concessão da bolsa de mestrado.

A TODOS que direta ou indiretamente me ajudaram a chegar até aqui. Muito Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Histórico da Malacocultura no Brasil.....	4
2.2 Características gerais de <i>Crassostrea rhizophorae</i>	5
2.3 Características do gênero <i>Nematopsis</i>	6
2.4 Organismos assemelhados a <i>Rickettsiae</i> (RLOs)	7
2.5 <i>Ancistrocoma</i> sp.	8
2.6 <i>Urastoma</i> sp.....	8
2.7 <i>Tylocephalum</i> sp.	9
3 ÁREA DE ESTUDO	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
CAPITULO 1	18
PARASITOS NA OSTRADO-MANGUE <i>Crassostrea rhizophorae</i> (GUILDING, 1828) CULTIVADA NO ESTUÁRIO DO RIO GRACIOSA EM TAPEROÁ, BAHIA	
CONCLUSÃO	32
ANEXO	36

COVA, Aliane Watanabe. **Parasitos na ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) cultivada no estuário do Rio Graciosa em Taperoá, Bahia.** Cruz das Almas, BA, 2013. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Autor: Aliane Watanabe Cova

Orientador: Prof. Dr. Moacyr Serafim Júnior

Coorientadora: Prof. Dra. Guisla Boehs

RESUMO: No presente trabalho, parasitos associados à ostra (*Crassostrea rhizophorae*) foram estudados em uma unidade de cultivo no estuário do rio Graciosa em Taperoá, Bahia. Mensalmente, entre abr/2011 e mar/2012, 20 ostras foram coletadas, mensuradas e fixadas em formol a 10%. Para a identificação dos parasitos foram utilizadas técnicas histológicas de rotina com inclusão em parafina e obtenção de cortes com 7µm, corados por Hematoxilina de Harris e Eosina e examinados em microscopia de luz. Na área do cultivo, os parâmetros analisados para a qualidade da água mostraram que a temperatura variou de 23,91°C a 29,34°C, a salinidade de 0,43 a 24,25 e a pluviometria de 80mm a 406,44mm/mês. Nas análises parasitológicas foram observadas infestações do poliqueta *Neanthes succinea* em 41% das ostras. A partir das técnicas histológicas foram identificados colônias de organismos assemelhados Rickettsiae (RLOs); os protozoários *Nematopsis* sp., *Ancistrocoma* sp.; o turbelário *Urastoma* sp.; o metacestóide *Tylocephalum* sp. e um Platelmino não identificado. Os dados obtidos mostraram baixa intensidade de infecção e prevalência de parasitos, exceto para *Nematopsis* sp., atestam a boa condição de saúde das ostras no cultivo.

Palavras – chave: histologia; protozoário; *Nematopsis* sp.; *Neanthes succinea*; bivalves

COVA, Aliane Watanabe. **Parasites in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) grown in estuary in Graciosa River Taperoá, Bahia.** Cruz das Almas, BA, 2013. Dissertation, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Author: Aliane Watanabe Cova

Adviser: Prof. Dr. Moacyr Serafim Júnior

Coadvisor: Prof. Dra. Guisla Boehs

ABSTRACT: In this study, parasites associated with oyster (*Crassostrea rhizophorae*) were studied in a unit of cultivation in the river estuary in Graciosa Taperoá, Bahia. Monthly, 20 oysters were collected and measured between the Apr/2011 to Mar/2012 and fixed in 10% formalin. For the identification of parasites was used routine histological techniques with inclusion of paraffin and getting cuts with 7 microns, stained with Harris Hematoxylin and Eosin and examined under light microscopy. In the area of cultivation, evaluated parameters for the quality of the water showed that the temperature ranged from 23.91°C to 29.34°C, salinity from 0.43 to 24.25 and precipitation of 80mm to 406.44mm/month. In the parasitological analysis were observed infestations of polychaete *Neanthes succinea* in 41% of the oysters. From histological techniques were identified colonies assimilated organisms Rickettsiae (RLOs); protozoa *Nematopsis* sp., *Ancistrocoma* sp. Turbelário the *Urastoma* sp., The metacestode *Tylocephalum* sp. Flatworm and unidentified. The data showed low infection intensity and prevalence of parasites, except for *Nematopsis* sp., attest to the good health of oyster cultivation.

Palavras – chave: histology; protozoan; *Nematopsis* sp.; *Neanthes succinea*; bivalve

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura tem apresentado nas últimas décadas um crescimento médio de 6,5% ao ano e é considerada pela FAO como uma alternativa viável para suprir em parte a carência de alimentos no mundo (FAO, 2012). O desenvolvimento desta atividade vem contribuindo para a redução do extrativismo e da pesca predatória e repercutindo de forma positiva na preservação dos ecossistemas (ROCZANSKI *et al.*, 2000).

A expansão da aquicultura deve ser encarada com cautela, pois a atividade mesmo apresentando um potencial técnico-econômico e desempenhando um papel social importante pode, durante sua expansão, desencadear uma série de problemas que possam vir a comprometer sua longevidade (BORGHETTI; OSTRENSKY, 2000). Esta atividade tem sido o veículo de transporte de espécies de um país para outro e dentro do mesmo país, muitas vezes sem controle mínimo dos possíveis impactos ambientais (ASSAD; BURSZTYN, 2000).

Em ambientes marinhos a prática da aquicultura (maricultura), propicia o desenvolvimento socioeconômico de muitas comunidades litorâneas. Dentre as práticas aquícolas, o cultivo de moluscos bivalves (malacocultura) destaca-se por ser uma atividade na qual o pescador se identifica e exige baixo custo para implantação e manutenção.

Os bivalves de maior interesse econômico do litoral brasileiro são representados pelas ostras *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), a ostra-do-mangue e *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), a ostra-do-Pacífico; pelos mariscos *Perna perna* (Linnaeus, 1758), *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) e *Mytella falcata* (Orbigny, 1846); pela lambreta, *Lucina pectinata* (Gmelin, 1791); pelo moapem ou unha-de-velha, *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786); pelo berbigão ou chumbinho, *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791); e pela vieira, *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (BOEHS *et al.*, 2012).

A malacocultura é praticada intensivamente no mundo desde a primeira metade do século XX. Contudo, sua intensificação resultou ou ainda resulta numa das principais causas de aparecimento de doenças ou epizootias. Isso aumenta o risco de introdução de espécies patogênicas exóticas, as quais podem resultar em

um decréscimo significativo das populações de bivalves cultivadas ou não (BOWER; FIGUEIRAS, 1989).

O primeiro registro de parasitismo em moluscos bivalves comestíveis no Brasil data de 1966, com o trabalho de NARCHI, sobre um trematódeo parasita do berbigão (*Anomalocardia brasiliiana*). Com o desenvolvimento dos cultivos de ostras e mexilhões, estão se constituindo os primeiros grupos de pesquisa em relação à saúde destes animais (DA COSTA, 2007). Estudos recentes sobre parasitos em moluscos bivalves com potencial para cultivo no litoral brasileiro, tem sido desenvolvidos com as ostras *C. rhizophorae* e *C. gigas*, os mexilhões *Perna perna* e *M. guyanensis* e o berbigão *A. brasiliiana* (BOEHS *et al.*, 2012).

A propagação de enfermidades nos estoques de bivalves está, em parte, relacionada às práticas de cultivo, que implicam quase sempre em altas densidades populacionais, que acabam por alterar seu estado fisiológico e imunológico, tornando estes organismos mais susceptíveis às infecções que podem culminar na mortalidade em massa (DA SILVA, 2008).

Os manguezais apresentam grande diversidade de macro e microrganismos, além de servirem de abrigo para muitas espécies animais que ali se reproduzem (SCHAEFFER-NOVELLI, 1991; ALVES, 1995). Um dos grandes problemas para os cultivos de moluscos, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, é a grande diversidade de organismos associados aos cultivos como parte da fauna e flora. Esses organismos, aliados ao sedimento que se acumula nos cultivos (principalmente em locais de fundo areno-lodoso ou lodoso), bloqueiam o fluxo de água, além de competir por espaço e alimentos. Esta condição estressante leva a um enfraquecimento que afeta a capacidade de defesa dos animais, tornando-os mais susceptíveis a enfermidades (MAGALHÃES; FERREIRA, 2006).

Não obstante, o conhecimento acumulado nos últimos anos sobre enfermidades e patógenos de moluscos bivalves cultivados, as possibilidades de cura das enfermidades ainda são remotas (BOWER, 2001). A falta de investimentos em sanidade aquícola dificulta os estudos nessa área que poderiam evoluir paralelamente com o setor produtivo. O conhecimento e o controle de enfermidades são fatores importantes para o processo produtivo e da biologia do organismo cultivado, seja do ponto de vista individual ou populacional (COSTA, 2007). O diagnóstico de enfermidades em bivalves apoia-se principalmente em técnicas histológicas (DA SILVA; VILLALBA, 2004).

Vários organismos podem viver em associação a bivalves marinhos, causando ou não danos aos mesmos (CHENG, 1967). Segundo Anderson e May (1978) parasitismo é uma associação do parasito com seu hospedeiro, em que o primeiro utiliza o segundo com habitat, dependendo metabolicamente, causando-lhe danos que podem levar o hospedeiro desenvolver doenças. Enfermidade ou doença é um desvio negativo da saúde de um organismo, que reduz ou afeta o potencial de crescimento, reprodução, a resistência ao estresse, a competitividade e a sobrevivência do animal (KINNE, 1983).

A grande maioria dos parasitos responsáveis pela mortalidade e morbidade em bivalves são as bactérias e os protozoários, entre os quais os gênero *Bonamia*, *Mikrocytos*, *Marteilia*, *Perkinsus* e *Haplosporidium* (DA SILVA, 2008).

Boehs *et al.* (2012) afirmam que na costa brasileira, os principais registros de patógenos em moluscos bivalves (*C. rhizophorae*, *C. gigas*, *Perna perna*, *M. guyanensis*, *A. Brasiliana* e *Tagelus plebeius*) incluem bactérias (organismos similares a Rickettsiae), protozoários (*Sphenophrya* sp., *Trichodina* sp., *Ancistrocoma* sp., *Nematopsis* sp., *Perkinsus* sp. e *Steinhausia mytilovum*), fungos não identificados, e metazoários (*Urastoma* sp., *Bucephalus margaritae*, *Tylocephalum* sp., *Polydora websteri*, *Pseudomyicola spinosus*).

Estudos sobre parasitos e doenças de moluscos bivalves são importantes, uma vez que, proporcionam o conhecimento necessário para a gestão da cultura e manutenção dos recursos naturais (ZEIDAN *et al.*, 2012). Estes organismos são responsáveis por grandes perdas na produção de ostras e mexilhões. Pesquisas na área de patologia de bivalves são ainda incipientes e os relatos muito escassos, o que limita o conhecimento sobre os aspectos sanitários desses organismos.

O aumento significativo da produção de moluscos bivalves no Brasil e no Mundo, justifica a relevância dos estudos relacionados com parasitos e outros agentes patógenos de organismos aquáticos, principalmente aqueles que tratam de hospedeiros com potencial para o cultivo e comercialização.

A expansão dos cultivos de ostras em comunidades litorâneas da Bahia aponta para a necessidade de desenvolver estudos relacionados a enfermidades em moluscos bivalves causados por parasitos, uma vez que a situação de cultivo pode desencadear a propagação desses organismos, pela proximidade e densidade de indivíduos. A partir desse pressuposto, no presente trabalho

objetivou-se investigar os parasitos associados à ostra *Crassostrea rhizophorae* em uma unidade de cultivo no estuário do rio Graciosa no município de Taperoá, Bahia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico da Malacocultura no Brasil

No Brasil, a primeira referência sobre o potencial da ostreicultura foi feita em 1934 em uma publicação do Comandante Alberto Augusto Gonçalves intitulada “O Futuro Industrial da Ostreicultura no País” (JOHNSCHER-FORNASARO, 1981). Estudos seminais sobre a biologia e ecologia das espécies de ostras no litoral brasileiro foram realizados por Lima e Vazzoler (1963) para a região de Santos com objetivo de verificar a viabilidade comercial.

Cultivos de moluscos marinhos de interesse comercial foram implantados em 1971, nos estados da Bahia e Santa Catarina, com a ostra do mangue (*C. rhizophorae*). Na Bahia foi instituído o “Projeto Ostreicultura”, através da assinatura de um convênio de assistência técnica entre a Universidade Federal da Bahia e o Conselho Britânico, visando o desenvolvimento de uma técnica artesanal de cultivo da ostra do mangue, apropriada as condições ambientais, tais como as encontradas em alguns estuários da Baía de Todos os Santos. O aperfeiçoamento desta técnica levaria a maior produtividade possível dentro dos menores custos para beneficiar não só as marisqueiras como também os pescadores artesanais. Com base nesses resultados, em 1974 foi implantada a primeira fazenda experimental de engorda de ostras no estuário do rio Jacuruna (NASCIMENTO, 1978).

Em 1973, o especialista japonês Takeshi Wakamatsu apresentou, de forma didática várias, metodologias de cultivo para ostras nativas para a região da Cananéia em um relatório sobre “A ostra de Cananéia e seu cultivo” (OSTINI; POLI, 1989).

Em 1974, ostra japonesa (*C. gigas*) foi introduzida pela primeira vez no Brasil na região de Cabo Frio-RJ (COSTA, 1983). No ano seguinte o primeiro lote

de *C. gigas* foi introduzido em São Paulo na região de Ubatuba (AKABOSHI, 1979).

No final da década de 80 e início da década de 90, no Rio de Janeiro e em Santa Catarina, foram iniciados os estudos referentes à introdução de uma espécie exótica de ostra para fins de cultivo, tendo sido realizados experimentos de cultivo de sementes com a ostra japonesa *Crassostrea gigas* (THUMBERG, 1975) através do Projeto Cabo Frio (PROENÇA, 2001).

2.2 Características gerais de *Crassostrea rhizophorae*

Moluscos bivalves, constituem dentre os invertebrados marinhos, o grupo de maior importância econômica e inclui várias espécies de ostras, mexilhões e vieiras (LAUCKNER, 1983).

Crassostrea rhizophorae (Bivalvia: Ostreidae) é naturalmente encontrada em ambientes estuarinos tropicais da costa brasileira (NASCIMENTO *et al.*, 1986). A distribuição geográfica desta espécie abrange a região sul do Caribe, a Venezuela, o Suriname, o Brasil e o Uruguai. É encontrada presa às raízes de plantas do mangue, sobretudo à *Rhizophora mangle* L., o mangue vermelho. Como as raízes aéreas desses vegetais geralmente ocupam as faixas médias e inferiores da zona entremarés, este é o habitat mais característico desta espécie (RIOS, 2009).

São moluscos eurihalinos e euritérmicos adaptados ao ambiente estuarino de turbidez elevada, devido à presença de uma câmara proval no lado direito do corpo que inverte a movimentação da água corrente exalante (YONGE, 1960; GALTSOFF, 1964; GALVÃO *et al.*, 2000).

Apresentam corpo mole, protegido externamente por uma concha. Esta concha apresenta duas valvas: a valva superior ou direita, que é plana; e a valva inferior ou esquerda, que é levemente côncava ou abaulada (MANZONI, 2001). A concha é constituída basicamente por carbonato de cálcio, que é retirado diretamente da água do mar com auxílio de glândulas localizadas no manto, que é a camada que envolve a massa visceral. A junção entre as duas valvas é feita com auxílio de dentes cardinais e de um único músculo adutor que localiza-se nas

proximidades da margem dorsal da concha (GALTSOFF, 1964; WAKAMATSU, 1973; COSTA, 1985).

Os gêneros de ostras mais cultivados pertencem principalmente aos gêneros *Ostrea* e *Crassostrea* (BARDACH, 1968; ANGELL, 1986). No Brasil, a ostreicultura baseia-se no gênero *Crassostrea* (NASCIMENTO, 1983; POLI, 2004).

2.3 Características do gênero *Nematopsis*

O gênero *Nematopsis* é um protozoário parasito do filo Apicomplexa representado por várias espécies que ocorrem em muitos casos, como parasitos patogênicos de moluscos bivalves de importância comercial (AZEVEDO; MATOS, 1999). Este gênero inclui mais de 30 espécies conhecidas, parasitando diversas espécies de moluscos: *Nematopsis mytella* parasita do mexilhão *Mytella guyanensis* da região Amazônica (AZEVEDO; MATOS, 1999), do mexilhão *Mytella falcata* e *Crassostrea rhizophorae* da ilha de Itamaracá - PE (PADOVAN *et al.*, 2003) e *Nematopsis gigas* parasita do gastrópode *Nerita ascenciones* da ilha de Fernando de Noronha (AZEVEDO; PADOVAN, 2004).

Este gênero é caracterizado por possuir um oocisto formado por uma parede espessa que envolve um único esporozóito (SPRAGUE, 1970 *apud* MAGALHÃES *et al.*, 2006). Os oocistos ocorrem geralmente dentro de um fagócito que passa a mover-se dentro do tecido para a maioria dos órgãos. O número de oocistos por hemócito é variável, de um a aproximadamente 20, mas na maior parte das vezes, esse número é de um a três oocistos/fagócito (BOEHS *et al.*, 2009). Os sítios preferenciais de infecção em moluscos bivalves são as brânquias e o manto, mas são encontrados, também, em outros locais como na glândula digestiva, palpos labiais, gônadas e no pé.

A identificação da espécie do *Nematopsis* sp. se dá através da forma, do tamanho e espessura da parede dos oocistos e a morfologia do operculum, sendo a maioria descrita com base em microscopia eletrônica de varredura ou transmissão (MAGALHÃES *et al.*, 2006).

Essas gregarinas utilizam os bivalves como hospedeiros intermediários e completam seu ciclo de vida no tubo digestório de crustáceos decápodes

(LAUCKNER, 1983; BOWER 1992; AZEVEDO; MATOS, 1999; CARBALLAL *et al.*, 2001).

2.4 Organismos assemelhados a Rickettsiae (RLOs)

Os procariontes pertencentes ao grupo das Rickettsiae e Chlamydiae, considerados bactérias, e os Mycoplasmas, assemelhados a bactérias (diferem destas por não apresentar parede celular) (LAUCKNER, 1983), também apresentam importância na patologia de bivalves marinhos. Altas prevalências de RLOs nos moluscos podem causar reação inflamatória e desorganização da arquitetura das brânquias, atribuído à lise das células infectadas e liberação das bactérias, o que possivelmente compromete o funcionamento das brânquias (BOEHS *et al.*, 2012). Outros estudos apontam efeitos mais graves, como ruptura dos túbulos digestivos contendo as colônias maiores (CREMONTE *et al.*, 2005a).

Conforme revisão de LAUCKNER (1983), organismos assemelhados a Rickettsiae (RLOs) foram registrados em vários bivalves, como em *Mya arenaria*, *Crassostrea gigas*, *Crassostrea virginica*, *Ostrea edulis* e *Tellina tenuis*. Na Espanha, RLOs foram observados em *Mytilus galloprovincialis*, *Venerupis rhomboides* e *Cerastoderma edule* (VILLALBA *et al.*, 1997; VILLALBA *et al.*, 1999; CARBALLAL *et al.*, 2001; ESTEPA, 2006), e no Uruguai em *Pitar rostrata* (CREMONTE *et al.*, 2005b).

No Brasil, RLOs foram registrados em *M. guyanensis* (BOWER *et al.* 1994; BOEHS *et al.*, 2009; BOEHS *et al.*, 2010; CEUTA; BOEHS, 2012; ZEIDAN *et al.*, 2012), sem danos aparentes aos animais infectados, em *Anomalocardia brasiliiana* do Ceará (FERREIRA *et al.*, 2008). Em ostras RLOs foram encontradas em *C. rhizophorae* com prevalências muito baixas em células do divertículo digestivo, sem causar reações hemocitárias (AZEVEDO *et al.*, 2005; DA SILVA, 2011; SABRY *et al.*, 2011; ZEIDAN *et al.*, 2012; BRANDÃO *et al.*, 2013) e em cultivos de *Crassostrea gigas* de Santa Catarina, também em baixa prevalência (PONTINHA, 2009).

Em *Venerupis rhomboides*, RLOs provocaram forte reação hemocitária e desorganização da arquitetura das brânquias, sendo apontados como prováveis

responsáveis por mortalidades em massa de algumas populações deste bivalve (VILLALBA *et al.*, 1999).

2.5 *Ancistrocoma* sp.

Os ciliados do gênero *Ancistrocoma* apresentam célula em formato oval, alongado, aplanado dorsoventralmente, com macronúcleo granular e basófilo e na superfície do corpo há presença de cílios (ZEIDAN *et al.*, 2012). Estes parasitos podem causar infecções leves em moluscos bivalves (BOWER *et al.*, 1994).

Uma espécie não identificada desse gênero foi registrada em *Crassostrea rhizophorae*, na Bahia, sem causar danos aparentes ao hospedeiro (NASCIMENTO *et al.*, 1986; ZEIDAN *et al.*, 2012; BRANDÃO *et al.*, 2013).

2.6 *Urastoma* sp.

A classe Turbellaria é composta predominantemente por organismos aquáticos, sendo a grande maioria marinha. São relatados como animais de vida livre ou escavadores, habitando fundos compostos por areia, lodo ou pedras (BURT; BANCE, 1981). *Urasoma* sp. em moluscos bivalves, habitam a cavidade do manto, o tubo digestivo e as brânquias sem provocar qualquer dano ao hospedeiro quando em pequenas densidades (BOWER *et al.*, 1992; CANNON, 1998; BOEHS, *et al.*, 2008). Ainda não está claro se esses metazoários desempenham o papel de comensais ou de parasitos, e este é o caso de espécies do gênero *Paravortex*, relatadas em vários bivalves (LAUCKNER, 1983).

No Baixo Sul da Bahia o parasito *Urastoma* sp. foi registrado em ostras *C. rhizophorae* por Boehs *et al.* (2008), Zeidan *et al.* (2012) e Brandão *et al.* (2013). Este parasito esteve presente nas brânquias e manto sem causar danos aparentes ao hospedeiro.

2.7 *Tylocephalum* sp.

A localização preferencial dos metacestóides é na glândula digestiva, geralmente na área periférica deste órgão (WINSTEAD *et al.*, 2004; SABRY; MAGALHÃES, 2005; SABRY *et al.*, 2007; BOEHS *et al.*, 2009). Esses parasitos provocam forte reação de defesa do hospedeiro, formando uma cápsula, em volta do parasito, composta por camadas de fibras e hemócitos do hospedeiro (CHENG; RIFKIN, 1968; LAUCKNER, 1983).

Larvas de cestóides (metacestóides) do gênero *Tylocephalum* são encontradas em bivalves marinhos principalmente em regiões tropicais e subtropicais, onde elasmobrânquios são os hospedeiros definitivos (LAUCKNER, 1983).

Na costa brasileira, vários trabalhos documentam a ocorrência de larvas de *Tylocephalum* sp. em três diferentes estados. No estado da Bahia, este parasito foi observado em *C. rhizophorae* por Nascimento *et al.* (1986); Boehs *et al.* (2010); Zeidan *et al.* (2012) e Brandão *et al.* (2013), *Iphigenia brasiliana* por Boehs *et al.* (2010), *M. guyanensis* por Ceuta e Boehs (2012) e *Anomalocardia brasiliana* por Boehs *et al.* (2010). Em Santa Catarina foi observado em *C. rhizophorae* por Sabry (2003), em *C. gigas* por Sabry *et al.* (2011) e Da Silva *et al.* (2011), *Perna perna* por Da Silva *et al.* (2011), *Anomalocardia brasiliana* por Boehs e Magalhães (2004) e Boehs *et al.*, (2010). No Ceará em *C. rhizophorae* por Sabry *et al.* (2007), Romão *et al.* (2009), *Anomalocardia brasiliana* por Ferreira *et al.* (2008) e em *Mytella falcata* por Sabry *et al.* (2006).

3 ÁREA DE ESTUDO

Taperoá é um município que está inserido no território do Baixo Sul da Bahia, localizado a 282km da capital Salvador. O município apresenta coordenadas geográficas de 13°32'17" S, 39°05'55"W, em uma altitude de 13m. Apresenta uma área de 409Km² e limita-se ao Norte com Valença (20km), ao Sul com Nilo Peçanha (7km), ao Leste com Cairú (30km), a Oeste com Teolândia (75km). Segundo dados do IBGE (2013) a população no ano de 2010 foi estimada em 18.748 habitantes.

Possui clima temperado, com temperatura média em anual de 19,4 a 24,60, não havendo registros abaixo de 15°C. As chuvas são abundantes e ocorrem com mais frequência nos meses de abril e agosto. O município, neste aspecto, é caracterizado como um dos mais chuvosos do estado, com uma pluviosidade em torno de 1100 a 2000mm anuais (SEI, 2013).

A economia é baseada na atividade de pesca e mariscagem além da agricultura familiar (BOMFIM, 2008).

Além da cidade e do distrito de Camurugi, há ainda os bairros de Jordão, Jacaré, Graciosa, Caminho do Rio, Muritiba, Baixinha e Lapinha, e os povoados: Lamego, Tanques, Cachoeirinha, Jequié-Mirim, Areinha, Riachão de Areia, Itiúba e muitos outros (PINHEIRO, 1989).

O município é banhado pela bacia do rio Camurugi e cortado por inúmeros cursos d'água, como o rio das Almas ou Jequié, Renovado, Graciosa ou do Engenho e Carijó e o riacho São Paulo (SEBRAE, 1995).

A localidade denominada Graciosa situa-se no limite geográfico entre o município de Taperoá e Valença, Baixo Sul da Bahia. Uma região que historicamente se consolidou como entreposto comercial desde os primórdios da colonização. O rio que margeia as imediações do povoado sempre serviu de acesso entre as ilhas que integram o arquipélago de Tinharé e o povoado de Sarapuí, a partir da extração de madeira e posteriormente produção de farinha destinada ao abastecimento das regiões vizinhas, Cairú e Morro de São Paulo no decorrer do período colonial (OLIVEIRA, 2004).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, E. Benthic foraminiferal responses to estuarine pollution: A review. **Journal of Foraminiferal Research**, v. 25, p. 190-203. 1995.
- ANDERSON, R. M.; MAY, R. M. Regulation and stability of host-parasite population interactions. **J. Anim. Ecol.**, v. 47, p. 219-247. 1978.
- ANGELL, C. L. The biology and culture of tropical oyster. **ICLARM Studies and Reviews**, n. 13, 42p. 1986.
- AKABOSHI, S. Notas sobre o comportamento da ostra japonesa, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1975), no litoral do Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 6, p. 93-104. 1979.
- ASSAD, L. T.; BURSZTYN, M. Aquicultura sustentável. In: VALENTI, W. C.; POLI, R. C.; PEREIRA, J. A.; BORGHETTI, J. R. (Eds.). **Aqüicultura no Brasil: Bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia. p. 33-72. 2000.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. Description of *Nematopsis mytella* (Apicomplexa), parasite of the mussel *Mytella guyanensis* (Mytilidae) from the Amazon Estuary and description of its oocysts. **Europ. J. Protistol.** v. 35, p. 427-433, 1999.
- AZEVEDO, C.; PADOVAN, I.; CORRAL, L.; PADOVAN, P. Ultrastructural description of an unidentified apicomplexan oocyst containing bacteria-like hyperparasites in the gill of *Crassostrea rhizophorae*. **Dis. Aquat. Org.**, 65. 2005.
- AZEVEDO, C.; PADOVAN, I. *Nematopsis gigas* n. sp. (Apicomplexa), a parasite of *Nerita ascensionis* (Gastropoda, Neritidae) from Brazil. **J Eukaryot Microbiol.** vol. 51, 2. p. 214–219. 2004.
- BARDACH, J. E. **Aquaculture**. Science, New Series, v. 161, n. 3846, p. 1098-1106, 1968.
- BOEHS, G.; LENZ, T. M.; VILLALBA, A. Parasitos na ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae* (Ostreidae) da Baía de Camamu, Bahia. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 10, 17-20 de novembro, Búzios, RJ, 2008. **Resumos...** Associação Brasileira de Patologistas de Organismos Aquáticos, 2008. p. 63.
- BOEHS, G., LENZ, T. M., VILLALBA, A. Xenomas in *Crassostrea rhizophorae* (Ostreidae) from Camamu Bay, Bahia, Brazil. **Braz. J. Biol.** v. 69, p.457–458. 2009.
- BOEHS, G.; MAGALHÃES, A. R. M.; SABRY, R. C.; CEUTA, L. O. Parasitos e patologias de bivalves marinhos de importância econômica da costa brasileira. In: SILVA-SOUZA, A. T.; LIZAMA, M. A. P.; TAKEMOTO, R. M. **Patologia e sanidade de organismos Aquáticos**. 1 ed. Maringá: Massoni, Cap. 8. p.165-193. 2012.

- BOEHS, G.; MAGALHÃES, A. R. M. Simbiontes associados com *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na Ilha de Santa Catarina e região continental adjacente, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 21, n. 4, 2004. p. 865-869.
- BOEHS, G.; VILLALBA, A.; CEUTA, L. O.; LUZ, J. R. **Parasites of three commercially exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira River (Ilhéus, Bahia, Brazil)**. J. Invertebr. Pathol. v. 103: p 43-47. 2010.
- BOMFIM, Girlandio. **Gomes. Memória e Pluralidade Cultural no contexto da escola Municipal São Salvador**. Valença – BA, Monografia, Universidade do Estado da Bahia *Campus XV*, 2008.
- BORGHETTI, J. R.; OSTRENSKY, A. A cadeia produtiva da aquicultura brasileira. In: VALENTI, W. C.; POLI, R. C.; PEREIRA, J. A.; BORGHETTI, J. R. (Eds.). **Aquicultura no Brasil: Bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. p. 73-106.
- BOWER, S. M. Diseases and parasites of mussels. In: **GOSLING, E. (ed.) The mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture**. Amsterdam, Elsevier. 1992. p. 543-563.
- BOWER, S. M.; FIGUERAS, A. J. Infectious diseases of mussels, especially pertaining to mussel transplantation. **World Aquaculture Review**. 1989. v. 20, n. 4, p. 89-93.
- BOWER, S. M. Hazards and risk management of *Mikrocytos mackini* in oysters. In: Rodgers, C.J. (eds), Proceedings of the OIE International Conference on Risk analysis in aquatic animal health. **World Organisation for Animal Health**, Paris, p. 164-166. 2001.
- BOWER, S. M., McGLADDERY, S. E., PRICE, I. M. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish. **Annual Review of Fish Diseases**. v. 4, p. 1-199. 1994.
- BRANDÃO, R. P.; BOEHS, G.; SILVA, P. M. Health assessment of the oyster *Crassostrea rhizophorae* on the southern coast of Bahia, northeastern Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 84-91, jan.-mar. 2013. ISSN 0103-846X (impresso) / ISSN 1984-2961 (eletrônico).
- BURT, M. D. B.; BANCE, G. N. Ultrastructure of the eye of *Urastoma cyprinae* (Turbellaria, Alloecoela). **Hydrobiologia**, v. 87, p. 84-276. 1981.
- CANNON, L. R. G. *Turbellaria of the World: a guide to the families and genera*. Amsterdam: ETI, 1998. CD-ROM.
- CARBALLAL, M. J.; IGLESIAS, D.; SANTAMARINA, J.; FERRO-SOTO, B.; VILLALBA, A. Parasites and pathologic conditions of the cockle *Cerastoderma*

edulis populations of the Coast of Galicia (NW Spain). **J. Invert. Pathol.**, 2001. p. 97.

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

CHENG, T. C. Parasites of commercially important marine molluscs. In: RUSSEL, F. C. (ed). **Advances in marine Biology**. New York: Academic Press Inc, 1967. p.198-254.

CHENG, T. C.; RIFKIN, E. The occurrence and resorption of *Tylocephalum* metacestodes in the clam *Tapes semidecussata*. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 10, p. 65-69. 1968.

COCHÔA, A. R.; MAGALHÃES, A. R. M. Perdas de sementes de mexilhões *Perna perna* (L., 1758), cultivados na Baía Norte - ilha de Santa Catarina/SC. In: **Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo**. São Paulo-SP, v. 34. n. 1. P. 1-10. 2008.

CORRÊA, Adriana de Abreu. **Estudo sobre a dinâmica de depuração de ostras de cultivo (*Crassostrea gigas*) artificialmente contaminadas com *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium**. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2006, 112 p.

COSTA, P. F. **Manual de maricultura: projeto Cabo Frio, Rio de Janeiro**. Instituto de Pesquisa da Marinha/ Projeto Cabo Frio. Cap. 6. Part. B. 1983. p.1-40.

COSTA, P. F. Biologia e tecnologia para o cultivo de ostras. In: **Brasil. Ministério da Marinha**. Instituto Nacional de Estudos do Mar, Manual de Maricultura. Rio de Janeiro, cap. VIII, parte B, 1985. 36 p.

CREMONTE, F.; BALSEIRO, P.; FIGUERAS, A. Occurrence of *Perkinsus olseni* (Protozoa: Apicomplexa) and other parasites in the venerid commercial clam *Pitar rostrata* from Uruguay, southwestern Atlantic coast. **Dis. Aquat. Org.**, v. 64, p. 85-90. 2005b.

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. 2005a.

DA COSTA, Rafael Luis. **Prevalência de enfermidades e histopatologia de *Perna perna* (Mollusca) em Florianópolis/SC**, Brasil. Florianópolis – SC. Dissertação de Mestrado em Aqüicultura. Universidade Federal de Santa Catarina 2007. 31p.

DA SILVA, P. M.; VILLALBA, A. Comparison of light microscopic techniques for the diagnosis of the infection of the European flat oyster *Ostrea edulis* by the protozoan *Bonamia ostreae*. **J. Invertebr. Pathol.**, 85, 97–104. 2004.

DA SILVA, P. M.; MAGALHÃES A. R. M.; BARRACCO M. A. Pathologies in commercial bivalve species from Santa Catarina State, southern Brazil. **J. Mar. Biol. Assoc. UK**. 2011; 92(3): 571-579.
<http://dx.doi.org/10.1017/S0025315411001007>.

DA SILVA, P. M. Diagnóstico de doenças de Moluscos Marinhos: uma prática para o bom desenvolvimento da maricultura. **Panorama da Aquicultura**. v. 18. n. 107. p. 22-27. 2008.

ESTEPA, D. I. 2006. **Estudio patológico de las poblaciones de berberecho *Cerastoderma edule* (L.) de Galicia**. Santiago de Compostela, Galicia. 290p. Tese de Doutorado. Universidade de Santiago de Compostela, Espanha.

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012**. Roma, FAO. 2012. 219p.

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 *Anomalocardia brasiliiana* (Bivalvia: Veneridae) do Estuário do Rio Pacoti, Ceará. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 10, 17-20 de novembro, Búzios, RJ, 2008. **Resumos...** Associação Brasileira de Patologistas de Organismos Aquáticos. 2008.

GALTSOFF, P. S. The American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). Fishery. Bull. **Nat. Mar. Fish. Serv.**, v. 64, p.1-430. 1964.

GALVÃO, M. S. N.; PEREIRA, O. M.; MACHADO, I. C.; HENRIQUE, M. B. Aspectos reprodutivos da ostra *Crassostrea brasiliiana* de manguezais do estuário de Cananéia, SP (25°S; 48°W). **B. Inst. Pesca**, v.26, p.147-162. 2000.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Cidades. Disponível em:
 <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=293120#>>. Acesso em 11 jun. 2013

JOHNSCHER-FORNASARO, Guiomar. **Observações sobre populações da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding 1828) em ambientes ecologicamente diferentes do litoral de São Paulo**. Dissertação. USP/IO. São Paulo. 1981. 163p.

KINNE, O. **Diseases of marine animals**. Hamburg, Biologische Anstalt Helgoland. p. 467-475. 1983.

LAUCKNER, G. Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: KINNE, O. (ed.) **Diseases of marine animals**. Hamburg, Biologische Anstalt Helgoland. 1983. p. 478-961.

LIMA, F. R.; VAZZOLER, A. E. Sobre o desenvolvimento das ostras e possibilidades da ostreicultura nos arredores de Santos. **Boletim do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo**, v.13, n.2, p.3-20, 1963.

MAGALHÃES, A. R. M.; FERREIRA, J. F. **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá, PR: Abrapoa. Parte II, 2006. p. 79-94.

MAGALHÃES, A. R. M.; RIBEIRO, L. 1998. Presença de parasitas trematódeos bucefalídeos em diferentes tecidos do mexilhão *Perna perna* (Mollusca, Bivalvia). In: Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 5 e Encontro Latino Americano de Patologistas de Organismos Aquáticos, 1, Maringá, 1998. **Resumos...**p. 126.

MANZONI, G. **Ostras: aspectos biológicos e técnicas de cultivo**. Itajaí: CGMA, 2001. 30 p.

MARQUES, H. L. A. **Criação comercial de mexilhões**. Nobel, 1998.

NASCIMENTO, I. A. **Cultivo de ostras no Brasil: Problemas e perspectivas**. *Ciência e Cultura*, v. 35, n. 7, p. 871-876, 1983.

NASCIMENTO, Iracema Andrade. **Reprodução da ostra do mangue, *Crassostrea rhizophorae*, (Guilding,1828): Um subsidio ao cultivo**. São Paulo. Doutorado em Ciências, Área Fisiologia - Universidade de São Paulo. 1978. 200p.

NASCIMENTO, I. A.; SMITH, D. H.; KERN I. I. F.; PEREIRA, S. A. Pathological findings in *Crassostrea rhizophorae* from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 47, p. 340-349. 1986.

NARCHI, W. Encontro de *Bucephalopsis haimeana* (Lacaze-Duthiers) no Brasil. *Ciência e Cultura*, v. 18, p. 22-24. 1966.

OLIVEIRA, Edgard Otacílio. **Sarapuí de Valença: história, belezas e lendas**. Monografia, Valença, BA. Universidade Estadual da Bahia *Campus XV*, 2004.

OSTINI, S.; POLI, C. R. A situação do cultivo de Moluscos no Brasil. In: **Cultivo de Moluscos em América Latina**. Bogotá: Red Regional de Entidades y Centros de Acuicultura de América Latina. p.137-170. 1989.

PADOVAN, I. P.; TAVARES, L. A.; CORRAL, L.; PADOVAN, P. A.; AZEVEDO, C. Fine structure of the oocyst of *Nematopsis mytella* (Apicomplexa, Porosporidae), a parasite of the mussel *Mytella falcata* and of the oyster *Crassostrea rhizophorae* (Mollusca, Bivalvia) from the northeastern Atlantic coast of Brazil. **Braz. J. morphol. Sci.** p. 141-145. 2003.

PINHEIRO, O. **Taperoá Minha Terra, Minha Gente e sua Política**. Documentário. Editora Contemporânea, Salvador, Bahia, 1989. 150 p.

POLI, C. R. Cultivo de ostras do pacífico (*Crassostrea gigas*, 1852). In: POLI, C. R.; POLI, A. T.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. **Aquicultura: Experiências Brasileiras**. UFSC – Multitarefa editora LTDA., p. 251 – 266, 2004.

PONTINHA, Vitor de Almeida. **Diagnóstico da saúde da ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) cultivada em Florianópolis/SC**. Florianópolis. Dissertação de Mestrado em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, 2009. 53p.

PROENÇA, C. E. M. **Plataforma do agronegócio da malacocultura**. CNPQ/DPA/MAPA, Brasília, 2001.

RIOS, E. C. **Compendium of Brazilian Seashells**. Porto Alegre: Fundação da Universidade do Rio Grande, 2009. 668p.

ROCZANSKI, M.; COSTA, S. W.; BOLL, M. G.; OLIVEIRA NETO, F. M. A evolução da aquicultura no Estado de Santa Catarina-Brasil. In: AQUICULTURA BRASIL 2000, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2000.

ROMÃO, L. S.; SABRY, R. C.; FERREIRA, L. P.; PRAXEDES, G. F.; GESTEIRA, T. C. V. Investigação de parasitas na ostra do mangue *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia, Ostreidae) do Estuário do Rio Pacoti - Ceará. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 28, Fortaleza, CE. **Resumos...** Universidade Federal do Ceará. 2009.

SABRY R. C., DA SILVA P. M., GESTEIRA T. C. V., PONTINHA V. A., Magalhães, A. R. M. Pathological study of oysters *Crassostrea gigas* from culture and *C. rhizophorae* from natural stock of Santa Catarina Island, SC, Brazil. **Aquaculture 2011**; v. 320, n. 1-2, p. 43-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011>.

SABRY, R. C.; GESTEIRA, T. C. V.; ASSIS, C. P.; SILVEIRA, F. F. 2006. Ocorrência de parasitismo no sururu *Mytella falcata* (Orbigny, 1846), do Estuário do Rio Jaguaribe CE. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, Maceió, AL, **Resumos...** Associação Brasileira de Patologistas de Organismos Aquáticos, 2006. 88 p.

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. **Brazilian Journal of Biology**. v. 67, 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. **Arq Bras Med Vet Zootec** v. 57, p. 194-203. 2005.

SABRY, Rachel Costa. **Parasitas em ostras de cultivo (*Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC**. Dissertação de Mestrado em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003. 34 p.

SEBRAE. SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICROS E PEQUENAS EMPRESAS – BAHIA Diagnóstico de municípios – **Tabuleiros de Valença – Taperoá**. Série desenvolvimento regional. Salvador. n. 19. 172 p. 1995.

SEI. Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. Disponível em: [WWW.sei.ba.gov.br/side\)consultrafame.wsp?tmp.codpai=grl&.pesquisa=fale](http://WWW.sei.ba.gov.br/side)consultrafame.wsp?tmp.codpai=grl&.pesquisa=fale)>. Acesso em: 15 de julho de 2013.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Manguezais brasileiros**. Tese Livre docência. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

VILLALBA, A.; CARBALLAL, M. J.; LÓPEZ, C.; CABADA, A.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Branchial Rickettsia-like infection associated with clam *Venerupis rhomboides* mortality. **Dis. Aquat. Org.**, v. 36, p. 53-60. 1999.

VILLALBA, A.; MOURELLE, S.G.; CARBALLAL, M.J.; LÓPEZ, C. Symbionts and diseases of farmed mussels *Mytilus gallo provincialis* throughout the culture process in the Rías of Galicia (NW Spain). **Dis. Aquat. Org.** v. 31, p. 127-139. 1997.

WAKAMATSU, T. **A ostra da Cananéia e seu cultivo**. 2ª Ed. São Paulo: SUDELPA/USP, 1973, 141p.

WINSTEAD, J. T.; VOLETY, A. K.; TOLLEY, S. G. Parasitic and symbiotic fauna in oysters (*Crassostrea virginica*) collected from the Caloosahatchee River and estuary in Florida. **Journal of Shellfish Research**, v. 23, p. 831-840. 2004.

YONGE, C.M. 1960. **Oysters**. Collins:London, 209p.

ZEIDAN, G. C.; LUZ, M. S. A.; BOEHS, G. Parasites of economically important bivalves from the southern coast of Bahia State, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 21, n. 4, p. 391-398. 2012.

CAPITULO 1

**PARASITOS NA OSTRADO-MANGUE *Crassostrea rhizophorae*
(GUILDING, 1828) CULTIVADA NO ESTUÁRIO DO RIO GRACIOSA
EM TAPEROÁ, BAHIA**

**Artigo submetido ao comitê editorial da Revista Brasileira de Parasitologia
Veterinária**

**PARASITOS NA OSTRA-DO-MANGUE *Crassostrea rhizophorae*
(GUILDING, 1828) CULTIVADA NO ESTUÁRIO DO RIO GRACIOSA EM
TAPEROÁ, BAHIA**

**Aliane Watanabe Cova¹; Moacyr Serafim Júnior¹; Guisla Boehs²; Jackson
Moreira de Souza¹**

¹Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/Programa de Pós-Graduação
em Ciência Animal - UFRB, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

²Universidade Estadual de Santa Cruz/Departamento de Ciências Biológicas -
UESC, Ilhéus, Bahia, Brasil

RESUMO

No presente trabalho, parasitos associados à ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae* foram estudados em uma unidade de cultivo no estuário do rio Graciosa em Taperoá, Bahia. Mensalmente, entre abr/2011 e mar/2012, 20 ostras foram coletadas, mensuradas e fixadas em formol a 10%. Para a identificação dos parasitos foram utilizadas técnicas histológicas de rotina com inclusão em parafina e obtenção de cortes com 7µm, corados por Hematoxilina de Harris e Eosina e examinados em microscopia de luz. Na área do cultivo, os parâmetros analisados para a qualidade da água mostraram que a temperatura variou de 23,9°C a 29,3°C, a salinidade de 0,4 a 24,2PSU e a pluviometria de 80mm a 406,4mm/mês. Nas análises parasitológicas foram observadas infestações do poliqueta *Neanthes succinea* em 41% das ostras. A partir das técnicas histológicas foram identificados colônias de organismos assemelhados Rickettsiae (RLOs); os protozoários *Nematopsis* sp. e *Ancistrocoma* sp.; o turbelário *Urastoma* sp.; o metacestóide *Tylocephalum* sp. e um Platelmino não identificado. Os dados obtidos mostraram baixa intensidade de infecção e prevalência de parasitos, exceto para *Nematopsis* sp., atestando a boa condição de saúde das ostras no cultivo.

Palavras – chave: histologia; protozoário; *Nematopsis* sp.; *Neanthes succinea*; bivalves

INTRODUÇÃO

Moluscos bivalves são filtradores, conseqüentemente se alimentam de partículas em suspensão na água. Por essas características, são considerados também reservatórios de inúmeros patógenos humanos, já que podem bioacumular primariamente bactérias, como as dos gêneros *Salmonella* e *Shigella*, vírus entéricos e protozoários, devido à contaminação fecal nos locais de cultivos (LEE et al., 2003).

Vários grupos de organismos apresentam espécies patogênicas para moluscos: vírus, bactérias, líquens, microalgas, protozoários (flagelados, gregarinas, microsporídeos, haplosporídeos, ciliados), fungos, cnidários, poríferos, turbelários, trematódeos, cestóide, nematóides, copépodes, decápodes e pantópodes (SILVA-SOUZA, 2006).

Estudos sobre parasitoses em moluscos bivalves fornecem uma visão da magnitude dos problemas causados na produção de moluscos bivalves (DA SILVA et al., 2002; SABRY; MAGALHÃES, 2005). Em muitos casos as doenças causadas por esses microorganismos provocam perdas recorrentes, dizimando os estoques e estancando a indústria da produção de bivalves. Este foi o caso da ostra européia (*Ostrea edulis*), que foi severamente afetada pelos protozoários *Marteilia refringens* e *Bonamia ostrea* (DA SILVA; VILLALBA, 2004). Estes parasitos se propagaram nas décadas de 70 e 80 reduzindo drasticamente a produção nas principais áreas de cultivo da Europa. Ainda não existem formas de erradicar esses parasitos, o que faz com que estas doenças persistam de forma endêmica na maior parte de bancos naturais e cultivos de ostras, impossibilitando qualquer iniciativa de produção (ABOLLO et al., 2008; FAO, 2013)

No Brasil, o primeiro registro de parasitoses em moluscos bivalves comestíveis data de 1966, com o trabalho de NARCHI, sobre um trematódeo parasita do berbigão (*Anomalocardia brasiliiana*). Com o desenvolvimento dos cultivos de ostras e mexilhões, estão se constituindo os primeiros grupos de pesquisa em relação à saúde destes animais (DA COSTA, 2007). Estudos recentes sobre parasitos em moluscos bivalves com potencial para cultivo no litoral brasileiro, tem sido desenvolvidos com as ostras *C. rhizophorae* e *C. gigas*, os mexilhões *Perna perna* e *M. guyanensis* e o berbigão *A. brasiliiana* (BOEHS et al., 2012).

Na Bahia, especificamente na Baía de Todos os Santos, Nascimento et al. (1986) encontraram em ostras de mangue da espécie *C. rhizophorae*, a presença de vários parasitos (*Gregarina*, *Microsporidia*, *Nematopsis* sp., ciliados *Ancistocoma*; vermes trematódeos dos gêneros *Bucephalus* e cestóide do gênero *Tylocephalum*). Neste mesmo trabalho a presença do protozoário *Nematopsis* sp. parasitando as brânquias de *C. rhizophorae*, chegando a alcançar uma prevalência de 100%.

Os protozoários do gênero *Nematopsis* utilizam os bivalves marinhos como hospedeiros intermediários, completando seu ciclo de vida no tubo digestório de crustáceos (LAUCKNER, 1983; BOWER, 1992; AZEVEDO; MATOS, 1999; CARBALLAL et al., 2001). Da Silva (2003) analisando ostra de cultivo no estuário da Barra de Catuama (PE) da espécie *C. rhizophorae*, registrou uma grande mortalidade nos lotes desses organismos, devido a presença do protoparasita *Nematopsis* sp.

Em regiões tropicais e subtropicais, a diversidade de organismos associados aos cultivos como parte integrante da fauna e flora acompanhantes ou de organismos incrustantes, constituem um dos grandes problemas para a malacocultura (MAGALHÃES; FERREIRA, 2006).

Segundo Rocha et al. (2007) *apud* Souza et al., (2007), os cultivos de moluscos bivalves servem como substratos marinhos e a imersão constante, fornece condições adequadas para a colonização de muitos invertebrados sésseis. Estes podem fixar-se tanto nas estruturas de cultivo quanto sobre os próprios bivalves, prejudicando o seu crescimento. Esse estresse leva a um enfraquecimento da capacidade de defesa dos animais, tornando-os mais susceptíveis à enfermidades (MAGALHÃES; FERREIRA, 2006).

A expansão dos cultivos de ostras em comunidades litorâneas da região costeiras do Brasil aponta para a necessidade de desenvolver estudos relacionados a enfermidades em moluscos bivalves causadas por parasitos, uma vez que a situação de cultivo pode desencadear a propagação desses organismos, pela proximidade e densidade de indivíduos. A partir desse pressuposto, no presente trabalho objetivou-se investigar os parasitos associados à ostra *Crassostrea rhizophorae*, em uma unidade de cultivo no estuário do rio Graciosa no município de Taperoá, Bahia.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

Taperoá é um município que está inserido no território do Baixo Sul da Bahia, localizado a 282km da capital Salvador. Possui clima temperado, com temperatura média em anual de 19,4 a 24,60, não havendo registros abaixo de 15°C. As chuvas são abundantes e ocorrem com mais frequência nos meses de abril e agosto. O município, neste aspecto, é caracterizado como um dos mais chuvosos do estado, com uma pluviosidade em torno de 1100 a 2000mm anuais (SEI, 2013).

As coletas foram realizadas no cultivo de ostras, localizado no povoado da Graciosa, situado entre o município de Taperoá e Valença, sob as coordenadas geográficas UTM (Universal Transverse Mercator) E 489960,575 e N 8509845,632 (Figura 1).

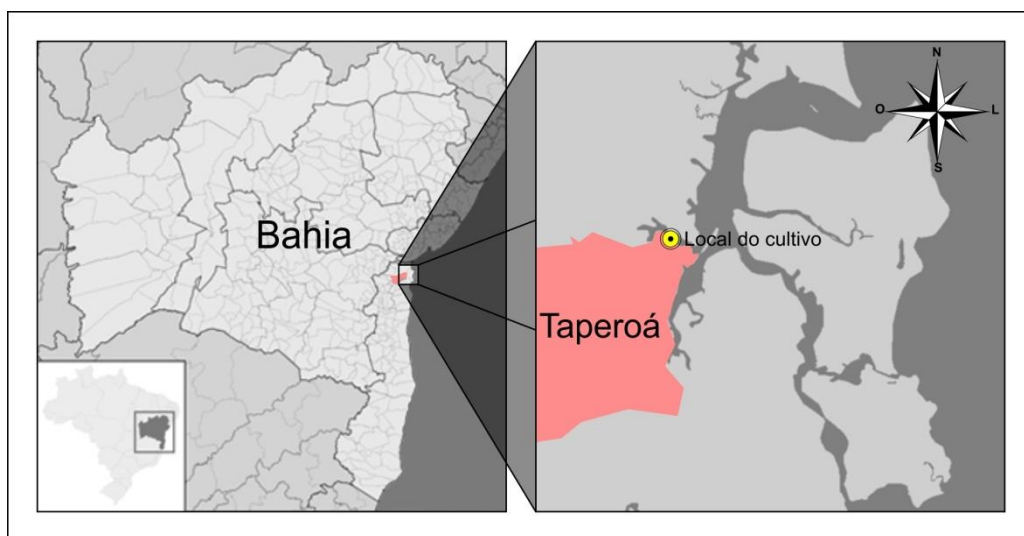


Figura 1: Localização da área de estudo

COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Durante a pesquisa, foram coletados 20 indivíduos de *C. rhizophorae* mensalmente entre abril/2011 a março/2012. Após as coletas, os indivíduos foram acondicionados em sacos plásticos etiquetados e transportados em caixas

isotérmicas com gelo e água do local para o laboratório de Zoologia de Invertebrados na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - *Campus* de Cruz das Almas, para realização da biometria (comprimento, largura e altura), peso úmido e análises macroscópicas.

Simultaneamente foram realizadas medições dos seguintes descritores ambientais: temperatura e salinidade, no local de cultivo, utilizando uma sonda multiparâmetros.

ANÁLISES LABORATORIAIS

Para as determinações da biometria e do peso úmido foram utilizados paquímetro de precisão de 0,05mm e uma balança respectivamente. Antes da abertura das valvas foram obtidas medidas de altura, Galtsoff (1964), largura e espessura.

As ostras foram examinadas externamente, após serem abertas com uma faca de lâmina curta, inserida entre as duas valvas para secção do músculo adutor e observações macroscópicas dos tecidos e da concha para detecção de parasitos.

Os cortes histológicos foram conduzidos em parte no NEPA (Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura) e no Laboratório de Histologia e embriologia na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Para as análises histológicas foram retirados os tecidos moles, em sentido diagonal na massa visceral, amostrando-se, brânquias, tubo digestório, manto, hepatopâncreas e gônadas de cada indivíduo, conforme recomendações de Howard et al. (2004). Posteriormente a este procedimento, foram fixados em solução de formol a 10%, por 24-48 horas e mantidos em álcool a 70% até o processamento histológico.

O processamento histológico consistiu na passagem dos tecidos moles por desidratação em banhos de álcool, diafanização em banhos de xilol, impregnação em parafina líquida e emblocamento em parafina.

Cortes histológicos de 7µm de espessura foram realizados com auxílio de um micrótomo, corados pelo método Hematoxilina e Eosina (HE). As lâminas

histológicas foram avaliadas em microscopia de luz, para registro dos parasitos que em seguida foram fotomicrografados e identificados.

TRATAMENTO DOS DADOS

A estatística descritiva foi aplicada para se obter média, desvio padrão, coeficiente de variação, valor máximo e mínimo. A plotagem dos gráficos ocorreu no Microsoft Excel® 2010.

A prevalência dos parasitos foi calculada segundo Bush et al. (1997), definida como o número de animais infectados por amostra, expresso em porcentagem.

RESULTADOS

Os valores obtidos para a temperatura da água variaram de 23,9°C no mês de jun/11 a 29,3°C no mês de março/12 ($\bar{x}=26,8$, $DP\pm 1,9$), a salinidade variou de 0,4PSU em abr/11 a 24,2PSU em dez/11 ($\bar{x}=10,5$, $DP\pm 9,1$) e os índices pluviométricos apresentaram valores mínimo 80mm em set/11 e máximo de 406,4mm em abr/11 ($\bar{X}=147,7$, $DP\pm 89,3$) (Figura 2).

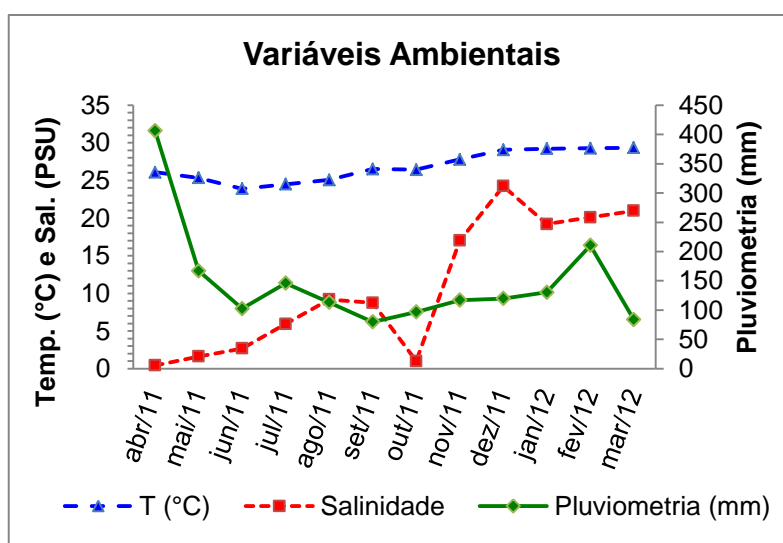


Figura 2: Variação da temperatura, salinidade e pluviometria na área de estudo.

Os resultados obtidos para a biometria mostraram que *C. rhizophorae* apresentaram as seguintes médias: altura = 81,4mm (DP±10,6); largura = 51,2mm (DP±8,7); espessura = 30,6mm (DP±6,8); e peso úmido = 72,5g (DP±23,4).

Durante as análises macroscópicas das ostras foi observado um parasito externo o poliqueta *Neanthes succinea* (Frey e Leuckart, 1847), que constrói tubos e galerias perfurando-as até a porção interna das conchas (Figura 3).

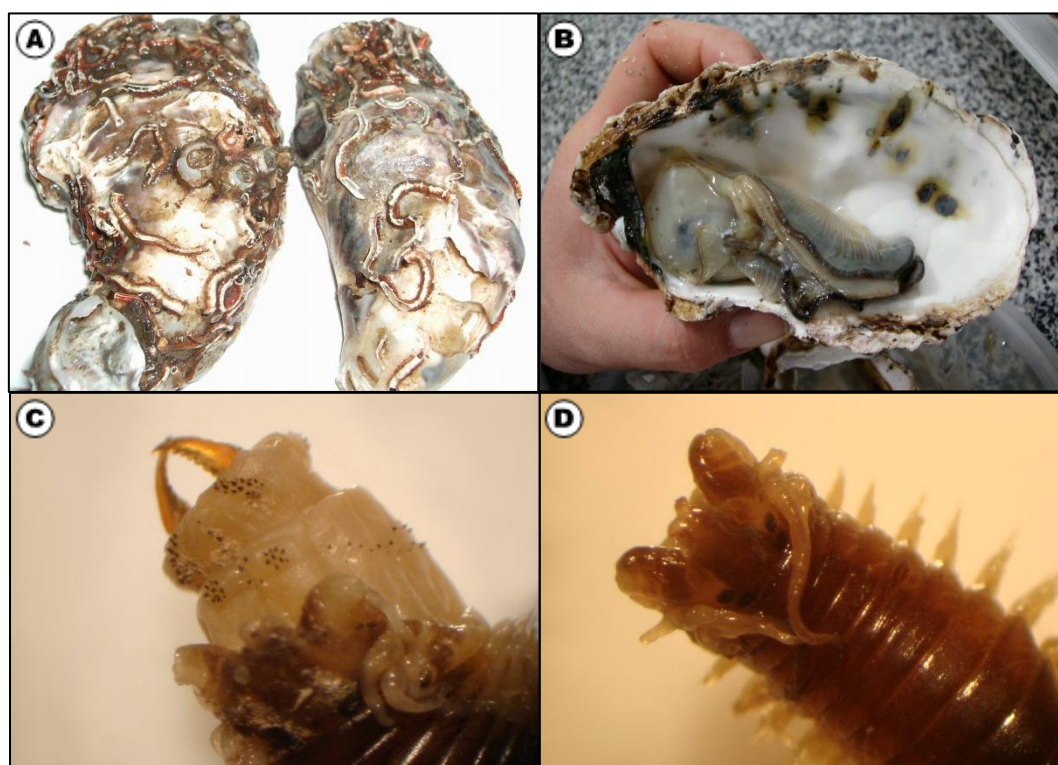


Figura 3. Polidiarose em *C. rhizophorae*. A) parte externa concha, mostrando os tubos de poliqueta; B) parte interna da concha com bolhas de lodo. C) Poliquetas (*Neanthes succinea*), probóscide, vista dorsal e D) região anterior, dois pares de olhos.

A infestação por poliquetas (*N. succinea*) foi de 41%, tubos de poliquetas foram observados em 28,4% (Figura 3A), marcas de poliquetas no interior da concha 31,9% (Figura 3B) e em 20,8% das ostras apresentaram bolhas de lodo. Nos meses de set/11, dez/11, jan/12 e fev/12 as ostras não apresentaram tubos de poliquetas nas valvas. A formação de bolhas de lodo e a presença de poliquetas nas valvas internas foram de 100% no mês de dez/11, enquanto em jun/11 e nov/11 elas estavam ausentes (Figura 4).

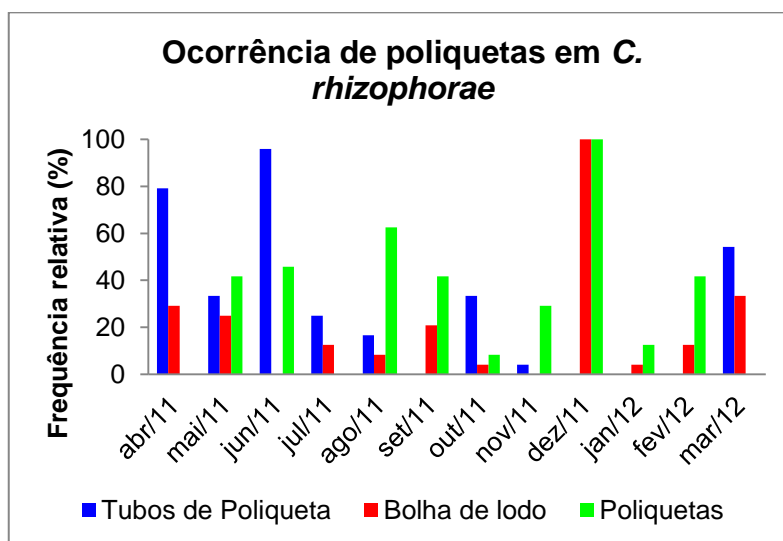


Figura 4. Frequência relativa de poliquetas e bolha de lodo nas ostras.

Nas análises microscópicas, foram observados organismos do grupo das bactérias, dos protozoários e dos metazoários. Os parasitos encontrados em *C. rhizophorae* foram: o protozoário *Ancistrocoma* sp., o turbelário *Urastoma* sp., o metacestóide *Tylocephalum* sp., Colônias de organismos assemelhados a Rickettsiae (RLOs), *Nematopsis* sp. e um Platelmino.

Foram observados protozoários do gênero *Nematopsis* em 98,7% das ostras analisadas (Figura 5A). A presença deste parasito não foi observada em apenas 3 exemplares de ostras nos meses de jun/11 (1 indivíduo) e set/11 (2 indivíduos). Nos tecidos observados as intensidades foram de 85,7% no manto; 79,0% no tubo digestório; 70,7% nas brânquias; 50,7% no músculo adutor e 35,9% nas gônadas. O diâmetro dos parasitos variou de 9,3 μ m a 14,2 μ m (\bar{X} = 12,2 μ m; DP \pm 1,2; n=25). O número de oocistos por fagócito variou de um a onze, mas na maioria dos casos, ocorreram de um a três. Em apenas um indivíduo houve uma desorganização do tecido do palpo labial, mostrando a destruição pelo parasito.

Colônias de organismos assemelhados Rickettsiae foram observadas com prevalência de 8,3% (20 ostras) na glândula digestiva (Figura 5B). O diâmetro das colônias variou de 9,2 μ m a 16,44 μ m (\bar{X} = 13,6 μ m; DP \pm 1,9; n=26). Foram observados até 34 colônias por sessão histológicas e 13 colônias por ácidos, na maioria dos casos havia 4 colônias por ácidos da glândula digestiva.

O ciliado *Ancistrocoma* sp. foi observado no lúmen do tubo digestivo com prevalências de 6,6% (16 ostras) (Figura 5C). Os ciliados apresentaram formato oval, comprimento variando de 18,3µm a 27,1µm ($\bar{X} = 22,2\mu\text{m}$; $DP \pm 3,3$; $n = 10$) e macronúcleo granular e basófilo. A intensidade de infecção foi baixa, em uma média de seis protozoários por corte histológico, contudo foram observados até três ciliados em um lúmen do tubo digestivo.

Urastoma sp. foi observado em 15 (6,28%) das ostras analisadas (Figura 5D). Este metazoário foi encontrado apenas nos filamentos branquiais, com apenas um turbelário por sessão histológica, com exceção de um corte histológico que apresentou dois. Nenhuma alteração histológica no tecido da ostra foi observada.

Um metacestóide de *Tylocephalum* sp. foi observado encapsulado (0,42%) em uma ostra, entre os ácinos da glândula digestiva com reação hemocitária, como resposta de defesa do hospedeiro (Figura 5E).

Em um exemplar de *C. rhizophorae* foi encontrado um Platelmino no interior do lúmen do tubo digestivo da ostra, sem causar danos aparentes (Figura 5F).

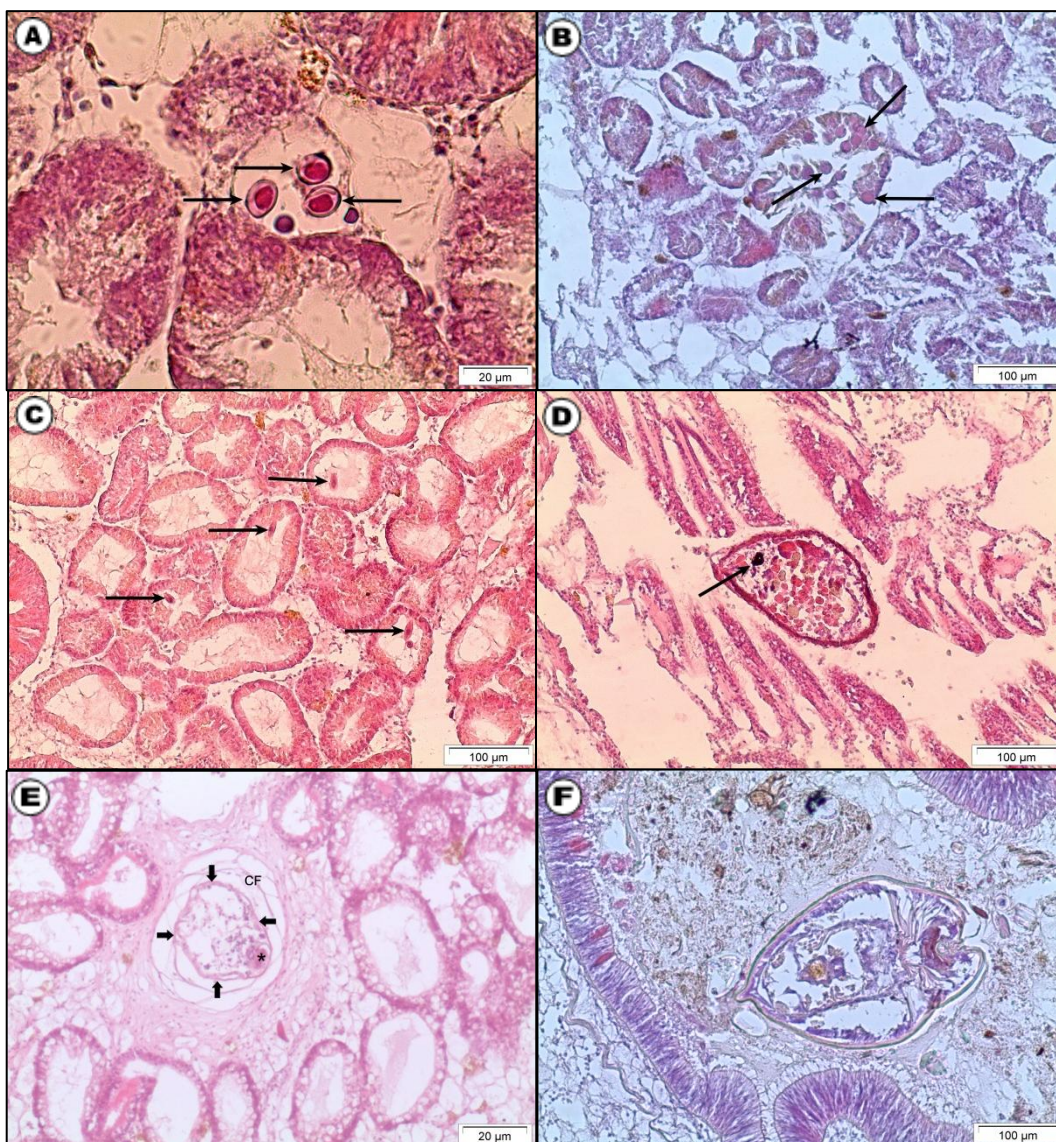


Figura 5: Parasitos em ostras em glândulas digestivas (GD) e brânquias (BR). A) *Nematopsis* sp. entre os ácinos (GD). B) Colônias de organismos assemelhados a *Rickettsiae* no interior do ácino (GD). C) *Ancistrocoma* sp nos ácinos (GD), D) *Urastoma* sp. nos filamentos (BR). E) *Tylocephalum* sp (GD) com cápsula fibrosa (CF) e myzorhynchus do metacestóide (*); e F) Platelmino não identificado no lúmen tubo digestivo da ostra.

DISCUSSÃO

As elevadas taxas de infestação de *Neanthes succinea* (59%) no presente estudo não causaram alterações morfológicas dos tecidos das ostras cultivadas. A presença de *Polydora websteri* foi registrada em 100% das ostras *C. rhizophorae* e *C. gigas* em áreas de cultivos no Sul do país (SABRY; MAGALHÃES, 2005; MACIEL et al., 2010). Apesar do elevado índice de

infestação nas ostras analisadas, não foi observado nenhum dano aos seus tecidos. Esses parasitos não comprometem a saúde do hospedeiro, mas a formação de bolhas de lodo afetam o aspecto, o sabor e o valor de mercado destes moluscos (SABRY; MAGALHÃES, 2005; BOEHS et al., 2012).

Foi observada no mês de dezembro uma alta taxa de infestação de poliquetas e bolhas de lodo nas ostras, quando a temperatura e a salinidade atingiram níveis mais elevados. Porém nos meses de nov/11 e fev/2012 não foram verificados tubos de poliquetas devido ao manejo de limpeza das ostras, realizado antes das coletas. A temperatura e salinidade da água têm sido reportadas por Lauckner (1983) como fatores primários na determinação da abundância de *Polydora*.

A presença de *Nematopsis* sp. é registrada com frequência em *C. rhizophorae*. Assim como os poliquetas, estes parasitos não provocam danos significativos à saúde de seus hospedeiros (NASCIMENTO et al., 1986; BOWER et al., 1994; AZEVEDO; MATOS, 1999; WINSTEAD et al., 2004; CREMONTE et al., 2005; SABRY; MAGALHÃES, 2007; ZEIDAN et al., 2012). Porém, animais infectados severamente por essas gregarinas podem ter comprometimento das funções das brânquias (CARBALLAL et al., 2001; ESTEPA, 2006).

Assim como Zeidan et al. (2012), no presente estudo foi verificado uma variação de um a três oocistos por fagócitos na maioria dos casos. Pinto e Boehs (2008) estudando esse mesmo parasito em *M. guyanensis*, na região de Ilhéus-BA observou que o número de oocistos por fagócitos variou de um a vinte e a situação mais comum foi de 1-3 oocistos/fagócito.

Nas ostras, os locais com maior frequência de infestação pelo *Nematopsis* sp. foram o manto, a glândula digestiva, a brânquias e o músculo adutor. Estes resultados corroboram com o trabalho de Brandão et al. (2013) para *C. rhizophorae* e similar com ao de Pinto e Boehs (2008) para *M. guyanensis*, onde a maior infestação ocorreu nas brânquias, seguida pelo manto, glândula digestiva e músculo.

A frequência destes parasitos nos moluscos está associada à presença de grande quantidade crustáceos nos manguezais, que completa seu ciclo de vida nestes organismos (BOEHS et al., 2009; BOEHS et al., 2010), que também foi observado no presente estudo. Durante as coletas foi verificada uma grande

quantidade de crustáceos das famílias Porcellanidae e Xantidae nas lanternas de cultivo das ostras.

Nascimento et al. (1986) observaram a ocorrência de 100% de *Nematopsis* sp. em *C. rhizophorae* da Baía de Todos os Santos – Bahia e concluíram que o parasita não foi o fator determinante para a mortalidade observada nas ostras. No presente estudo a ocorrência de *Nematopsis* sp. não causou alteração histopatológica aparentes nos hospedeiros, embora a prevalência alta, a intensidade foi baixa.

Os organismos assemelhados a Rickettsiae (RLOs) observados no presente estudo não causaram alterações microscópicas nos tecidos das ostras. Bower et al. (1994) afirmaram que a ocorrência de RLOs é geralmente de baixa intensidade e não estão associadas a doenças. Entretanto, outros estudos apontam efeitos mais graves, como ruptura dos túbulos digestivos contendo colônias maiores (CREMONTE et al., 2005). Villalba et al. (1999) verificaram prevalências altas de RLOs nos moluscos, com reação inflamatória e desorganização da arquitetura das brânquias, o que possivelmente compromete o funcionamento das brânquias e apontaram essas bactérias como responsáveis por mortalidades em *Venerupis rhomboides*.

A ocorrência de ciliados do gênero *Ancistrocoma* não comprometeram os tecidos dos hospedeiros. Estes ciliados estão associados à superfície das brânquias e à glândula digestiva de bivalves e utilizam a célula do hospedeiro como recurso alimentar (RUSSEL, 1967). Em *Crassostrea virginica* (MACKIN, 1962; WINSTEAD et al., 2004), *C. gigas* (PONTINHA, 2009), e *C. rhizophorae* (ZEIDAN et al., 2012; BRANDÃO et al., 2013) são frequentemente encontrados na glândula digestiva. Ainda, em *C. rhizophorae* estes parasitos foram observados em baixa prevalência e intensidade de infecção apenas nos túbulos digestivos, não causando danos significativos ao hospedeiro (BOWER et al., 1994; VILLALBA et al., 1997; WINSTEAD et al., 2004; DA SILVA; VILLALBA, 2004; PONTINHA, 2009, ZEIDAN et al., 2012; BRANDÃO et al., 2013).

O comportamento oportunista deste ciliado contribui para o aumento da sua frequência de ocorrência em bivalves, principalmente daqueles que apresentam estresse fisiológico causado por outros patógenos (RUSSEL, 1967; LAUCKNER, 1983). No presente estudo, as ostras infestadas por este ciliado estavam parasitadas por *Nematopsis* sp. e por RLOs em menor intensidade.

Zeidan et al. (2012) e Brandão et al. (2013), estudando *C. rhizophorae* também no litoral da Bahia, observaram *Urastoma* sp. nas brânquias e manto, com variação de um a três indivíduos/corte histológico e não foi observada nenhuma alteração histológica. Brun et al. (1999), confirmaram a maior atração de *U. cyprinae* (Graff, 1882) pelas ostras (*C. virginica*) em relação a *M. edulis* e os sítios de ocorrência do turbelário são realmente brânquias e manto.

A natureza da relação do parasito com o hospedeiro entre turbelários e bivalves marinhos ainda não está bem definida. Estes parasitos têm sido relatados mais frequentemente como comensais, não causando danos a seus hospedeiros (LAUCKNER, 1983; BOWER, 1992, BRUN et al., 1999). No entanto, em alto grau de infecção, podem ser considerados patogênicos e causar lesões macroscópicas, evidenciadas por manchas brancas no local e microscópicas por desorganização dos filamentos branquiais, hipertrofia das células epiteliais e infiltração hemocitária, com evidência de redução da capacidade de filtração (ZEIDAN et al., 2012).

O sítio de ocorrência, glândula digestiva, do metacestóide *Tylocephalum* confirma os registros anteriores realizados com *C. rhizophorae* (NASCIMENTO et al., 1986; SABRY; MAGALHÃES, 2005; SABRY et al., 2007), em estudos feitos com outros bivalves, *A. brasiliiana* e *Iphigenia brasiliiana* por Boehs et al. (2010) e em *C. gigas* (SABRY; MAGALHÃES, 2005). Ceuta e Boehs (2012) encontraram *Tylocephalum* sp. no manto, brânquias, glândula digestiva e palpos labiais de *M. guyanensis*.

Em todos os trabalhos reportados foi observada reação de defesa do hospedeiro, com formação de uma cápsula fibrosa ao redor do metacestóide, mas nenhum dano causado ao hospedeiro, já que há processo de reabsorção (ZEIDAN et al., 2012). As mesmas respostas foram observadas em outros moluscos como *Tapes semidecussata* (CHENG; RIFKIN, 1968), em *C. virginica* (WINSTEAD et al., 2004), em *C. rhizophorae* (SABRY; MAGALHÃES, 2005) e em *A. brasiliiana* e em *I. brasiliiana* (BOEHS; MAGALHÃES, 2004; BOEHS et al., 2010).

CONCLUSÃO

A infestação por poliquetas nas conchas afeta a aparência das ostras pela formação de bolhas de lodo, prejudicando a qualidade do produto. Técnicas de manejo devem ser aperfeiçoadas para remoção desses organismos nas ostras e nas estruturas do cultivo.

As ostras do estuário do Rio Graciosa são afetadas por sete parasitos, com intensidade baixa, isto sugere a boa condição de saúde das ostras.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB pela concessão de uma bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abollo E, Ramilo A, Casas SM, Comesaña P, Carballal MJ, Villalba A. First detection of the protozoan parasite *Bonamia exitiosa* (Haplosporidia) infecting flat oyster *Ostrea edulis* grown in European waters. *Aquaculture*, 2008; 274:201-207.

Azevedo C, Matos E. Description of *Nematopsis mytella* (Apicomplexa), parasite of the mussel *Mytella guyanensis* (Mytilidae) from the Amazon Estuary and description of its oocysts. *Europ J Protistol* 1999; 35: 427-433.

Boehs G, Magalhães ARM, Sabry RC, Ceuta LO. Parasitos e patologias de bivalves marinhos de importância econômica da costa brasileira. In: Silva-Souza AT, Lizama MAP, Takemoto RM. *Patologia e sanidade de organismos Aquáticos*. 1 ed. Maringá: Massoni; 2012. p. 165-193.

Boehs G, Magalhães ARM. Simbiontes associados com *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na Ilha de Santa Catarina e região continental adjacente, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 2004; 21(4): 865-869.

Boehs G, Lenz TM, Villalba A. Xenomas in *Crassostrea rhizophorae* (Ostreidae) from Camamu Bay, Bahia, Brazil. *Braz. J Biol* 2009; 69: 457–458.

Bower SM, Mcgladdery SE, Price, IM. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish. *Annual Review of Fish Diseases*. 1994; 4: 1-199.

Brandão RP, Boehs G, Silva PM. Health assessment of the oyster *Crassostrea rhizophorae* on the southern coast of Bahia, northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*, Jaboticabal 2013, 22(1): 84-91.

Brun NT, Boghen AD, Allard J. Attraction of *Urastoma cyprinae* (Turbellaria: Urastomidae) to the eastern oyster *Crassostrea virginica*. *Dis Aquat Org.*, 1999; 37(2): 139-144.

Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J Parasitol* 1997; 83(4): 575-583. PMID:9267395. <http://dx.doi.org/10.2307/3284227>.

Carballal MJ, Iglesias D, Santamarina J, Ferro-Soto B, Villalba A. Parasites and pathologic conditions of the cockle *Cerastoderma edule* populations of the Coast of Galicia (NW Spain). *J Invert Pathol* 2001:97.

Ceuta LO, Boehs G. Parasites of the mangrove mussel *Mytella guyanensis* (Bivalvia: Mytilidae) in Camamu Bay, Bahia, Brazil. *Braz J Biol* 2012; 72(3):421-427.

Cheng TC, Rifkin E. The occurrence and resorption of *Tylocephalum* metacestodes in the clam *Tapes semidecussata*. *Journal of Invertebrate Pathology* 1968; 10:65-69.

Cremonte F, Balseiro P, Figueras A. Occurrence of *Perkinsus olseni* (Protozoa: Apicomplexa) and other parasites in the venerid commercial clam *Pitar rostrata* from Uruguay, southwestern Atlantic coast. *Dis Aquat Org* 2005, 64: 85-90.

Da Costa RL. *Prevalência de enfermidades e histopatologia de Perna perna (Mollusca) em Florianópolis/SC, Brasil*. [Dissertação]. Florianópolis – SC. Universidade Federal de Santa Catarina; 2007.

Da Silva LOB. *Presença do protoparasita Nematopsis sp. (Apicomplexa) na costa do mangue, Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828), cultivada no estado de Pernambuco - Brasil* [Monografia]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2003.

Da Silva PM, Magalhães ARM, Barraco MA. Effects of *Bucephalus* sp. (Trematoda: *Bucephalidae*) on *Perna perna* mussels from a culture station in Ratoes Grande Island - Brazil. *J Invertebr Pathol* 2002; 79: 154-162.

Da Silva PM, Villalba A. Comparison of light microscopic techniques for the diagnosis of the infection of the European flat oyster *Ostrea edulis* by the protozoan *Bonamia ostreae*. *J Invertebr Pathol* 2004; 85: 97–104.

Estepa DI. *Estudio patológico de las poblaciones de berberecho Cerastoderma edule (L.) de Galicia*. Santiago de Compostela, Galicia [Tese de Doutorado]. Espanha: Universidade de Santiago de Compostela; 2006.

FAO. Departamento de Pesca y Acuicultura – *Ostrea edulis (Linnaeus, 1758) [Ostreidae]* [online]. 2013 [cited 2013 out 08]. Available from:

http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Ostrea_edulis/es.

Galtsoff PS. The American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Fishery. Bull. Nat Mar Fish Serv* 1964; 64:1-430.

Lauckner G. Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: Kinne, O. *Diseases of marine animals*. Hamburg, Biologische Anstalt Helgoland. 1983. p. 478-961.

Lee CY, Panicker G, Bej AK. Detection of pathogenic bacteria in shellfish using multiple - PCR followed by CovaLink NH microwell plat sandwichy bridization. *Journal of Microbiological Methods* 2003; 53(2): 199-209.

Maciel MLT, Ibbotson DP, Magalhães ARM. Polidiariose em *Crassostrea gigas* cultivadas na Praia da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC, Brasil. *Braz. J Vet Res Anim Sci* 2010; 47(5): 337-345.

Magalhães ARM, Ferreira JF. *Sanidade de organismos aquáticos no Brasil*. Maringá, PR: Abrapoa. Parte II, 2006. p. 79-94.

Narchi, W. Encontro de *Bucephalopsis haimeana* (Lacaze-Duthiers) no Brasil. *Ciência e Cultura* 1966; 18: 22-24.

Nascimento IA, Smith DH, Kern IIF, Pereira SA. Pathological findings in *Crassostrea rhizophorae* from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *J Invertebr Pathol* 1986; 47(3): 340-349. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-2011\(86\)90105-9](http://dx.doi.org/10.1016/0022-2011(86)90105-9).

Pinto TR, Boehs G. *Nematopsis* sp. (Apicomplexa: Eugregarinida) em *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mytilidae) da região estuarina do Rio Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2008; 45, 95–100.

Pontinha, VA. *Diagnóstico da saúde da ostra Crassostrea gigas (Thunberg, 1793) cultivada em Florianópolis/SC*. [Dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2009.

Sabry RC, Gesteira TCV, Boehs G. First record of parasitism in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) at Jaguaribe River estuary – Ceará. *Brazilian Journal of Biology* 2007; 67: 755-758.

Sabry RC, Magalhães AR. Parasitas em ostras de cultivo (*Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2005;57:194-203.

SEI. Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. [online] 2013[cited 2013 jul 15] Available from:

[WWW.sei.ba.gov.br/side\)consultrafame.wsp?tmp.codpai= grl&.pesquisa=fale](http://WWW.sei.ba.gov.br/side)consultrafame.wsp?tmp.codpai= grl&.pesquisa=fale).

Silva-Souza, AT. *Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil*. Maringá-PR. Abrapoa. 2006.

Souza GBG, Passos GM, Boehs, G. Macrofauna incrustante em coletores de sururu (*Mytella guyanensis*) na Ilha do Tanque, península de Maráú (BA). Caxambu – MG. *Sociedade de Ecologia do Brasil*, 2007.

Villalba A, Carballal MJ, López C, Cabada A, Corral L, Azevedo C. Branchial *Rickettsia-like* infection associated with clam *Venerupis rhomboides* mortality. *Dis Aquat Org* 1999. 36, 53–60

Villalba A, Mourelle SG, Carballal MJ, López C. Symbionts and diseases of farmed mussels *Mytilus galloprovincialis* throughout the culture process in the Rías of Galicia (NW Spain). *Dis Aquat Org* 1997; 31, 127-139.

Winstead JT, Volety AK, Tolley SG. Parasitic and symbiotic fauna in oysters (*Crassostrea virginica*) collected from the Caloosahatchee River and estuary in Florida. *Journal of Shellfish Research* 2004; 23: 831-840.

Zeidan GC, Luz MSA, Boehs, G. Parasites of economically important bivalves from the southern coast of Bahia State, Brazil. Jaboticabal. *Rev Bras Parasitol Vet* 2012; 21(4): 391-398.

ANEXO

Instruções aos Autores

Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária
Brazilian Journal of Veterinary Parasitology

Apresentação

A Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária é um órgão oficial de divulgação do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária (CBPV). Tem como objetivo publicar temas relativos a Helminthos, Protozoários, Artrópodes e Rickettsias bem como assuntos correlatos. A revista tem periodicidade trimestral. São aceitas submissões de manuscritos, em inglês, de pesquisadores de qualquer país, associados ou não ao CBPV. Este periódico oferece a todos os pesquisadores acesso eletrônico livre para consulta de todos os trabalhos, desde seu primeiro volume publicado em 1992.

Política Editorial

Os artigos submetidos à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária deverão caracterizar-se como científicos e originais, essencialmente sobre parasitas de animais em geral. O(s) autor(res) deverá(ão) anexar uma carta, previamente assinada, responsabilizando-se pela originalidade do artigo, salvo resumo(s) apresentado(s) em eventos científicos, não submetidos à publicação em outros periódicos. Trabalhos com mais de uma autoria deverão seguir com uma declaração de concordância de todos os autores, referente à publicação. Trabalhos com número excessivo de autores deverão ser avaliados pelos editores científicos assistentes, em relação ao protocolo experimental. É necessária a colaboração substancial de todos os autores no planejamento do estudo, obtenção, análise e interpretação de resultados, confecção do artigo e aprovação da versão final submetida e aceita. Colaboradores que não tiveram participação ativa em todo o processo descrito acima poderão ser listados na seção de agradecimentos. Poderá haver agradecimento ao pesquisador que forneceu auxílio técnico, correção ou sugestão na escrita, ou ao chefe de departamento que proporcionou infraestrutura para elaboração do trabalho. O processo de avaliação do trabalho dependerá da observância das Normas Editoriais, dos Pareceres do Corpo Editorial e/ou do Relator *ad-hoc*. Nesse processo, o editor-chefe e os editores científicos assistentes poderão sugerir ou solicitar as modificações necessárias, apesar de ser de responsabilidade dos autores os conceitos emitidos. Os artigos submetidos serão avaliados por, no mínimo, 3 revisores anônimos, selecionados pelo editor-chefe e editores científicos assistentes. A Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária atribui a seus artigos as categorias de: Artigos Completos, Notas de Pesquisa e Artigos de Revisão, sendo este último escrito por especialistas e condicionado a solicitação por convite do editor-chefe. Revisões não solicitadas não serão aceitas, mas o tópico da revisão pode ser sugerido, previamente, ao editor-chefe ou editores científicos assistentes.

Processo de avaliação pelos pares

O processo de avaliação do trabalho dependerá da observância das Normas Editoriais, dos Pareceres do Corpo Editorial e/ou do Relator *ad-hoc*. Os artigos submetidos serão avaliados por, no mínimo, 3 revisores anônimos, selecionados pelo editor-chefe e editores científicos assistentes. O relator deverá preencher o formulário de avaliação da RBPV, disponível no sistema on-line de submissão (<http://submission.scielo.br/index.php/rbpv>). Tendo recebido a avaliação de pelo menos 2 dos revisores selecionados, o(s) autor(es) receberá os formulários de avaliação e possíveis correções feitas diretamente no texto. O avaliador poderá corrigir novamente o artigo, se necessário. Com a aprovação dos relatores, o artigo passa por revisão do inglês, pelos revisores credenciados pela RBPV. Após diagramação e editoração, os editores científicos assistentes e a editora-chefe da revista, fazem as correções finais.

Transferência de direitos autorais:

Ao ser submetido, o artigo deve vir acompanhado de um ofício, assinado por todos os autores, concordando com a submissão e, caso aprovado, a publicação do artigo apenas na RBPV.

Ética

Experimentos que utilizam animais deverão ser conduzidos obedecendo às normas aprovadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (<http://www.cobea.org.br>), devendo os autores apresentarem o número de protocolo de submissão e aprovação dos trabalhos em Comissão de Ética e Bem-Estar Animal.

Apresentação dos Manuscritos

Na elaboração do texto serão observadas as seguintes normas:

Os trabalhos devem ser submetidos em inglês, de forma concisa, com linguagem impessoal e com os sinais de chamadas de rodapé em números arábicos, lançados ao pé da página em que estiver o respectivo número e em ordem crescente. Os trabalhos deverão ser apresentados em fonte "Times New Roman", tamanho 12, com margem superior e inferior de 2,5 cm, esquerda e direita com 3 cm e espaçamento entre linhas de 1,5 cm com as páginas numeradas. Para a categoria Artigo Completo, o trabalho não deverá exceder 15 páginas, quando da diagramação final. Para a categoria Notas de Pesquisa, o trabalho não deverá exceder 5 páginas, quando da diagramação final. As tabelas e ilustrações deverão ser apresentadas separadas do texto e anexadas ao final do trabalho, sem legendas. As respectivas legendas deverão vir no texto logo após as referências bibliográficas. Ao submeter o artigo, anexar o comprovante de depósito, via endereço eletrônico: <http://www.scielo.br/rbpv>. Os trabalhos aceitos deverão ser revisados por um dos revisores de língua inglesa credenciados pela RBPV, de escolha e sob responsabilidade dos autores. Os Artigos Completos devem ser organizados obedecendo à seguinte sequência: **Título Original, Título Traduzido, Autor(es), Filiação Institucional, Abstract (Keywords), Resumo (Palavras-chave), Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões**(ou combinação destes três últimos), **Agradecimentos**(facultativo) e **Referências Bibliográficas**. As Notas de Pesquisa obedecem à sequência acima sem a necessidade de se destacar os tópicos, sendo escritas em texto corrido.

Para essa categoria, o artigo submetido deve possuir alto grau de ineditismo e originalidade, trazendo resultados novos de importância evidente.

Características dos elementos de um trabalho científico

Título Original

O título “cheio” e o subtítulo (se houver) não devem exceder 15 palavras. Não deverá aparecer nenhuma abreviatura, e os nomes de espécies ou palavras em latim deverão vir em itálico. Evitar (por exemplo) títulos que iniciem com: Estudos preliminares; Observações sobre. Não usar o nome do autor e data de citação em nomes científicos.

Autor(es)/Filiação

Na identificação, deve constar: nome completo e por extenso de todos os autores (sem abreviação). A Filiação Institucional deve informar os nomes próprios de todas as instituições e não suas traduções: Laboratório, Departamento, Faculdade ou Escola, Instituto, Universidade, Cidade, Estado e País, exatamente nessa ordem. No rodapé, deve constar as informações do autor para correspondência: Endereço completo, telefone e e-mail atualizado, nessa ordem

Referências Bibliográficas

As referências bibliográficas só serão admitidas desde que sejam de fácil consulta aos leitores. Não serão aceitas referências de trabalhos publicados em anais de congressos e as teses devem estar disponíveis para consulta em sites oficiais, por exemplo, Banco de Teses da Capes: <http://www.capes.gov.br/servicos/banco-de-teses>. Todas as citações no texto devem ser cuidadosamente checadas em relação aos nomes dos autores e datas, exatamente como aparecem nas referências.

“Abstract” e Resumo

Devem conter no máximo 200 palavras, em um só parágrafo sem deslocamento. Não devem conter citações bibliográficas. Siglas e abreviações de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso, por exemplo, Indirect Fluorescence Assay (IFA). Devem ser informativos, apresentando o objetivo do trabalho, metodologia sucinta, os resultados mais relevantes e a conclusão. O abstract redigido em língua inglesa e o resumo em língua portuguesa, ambos seguidos por keywords e palavras-chave, respectivamente.

Keywords e Palavras-chave

As palavras-chave devem expressar com precisão o conteúdo do trabalho. São limitadas em no máximo 6 (seis).

Introdução

Explicação clara e objetiva do estudo, da qual devem constar a relevância e objetivos do trabalho, restringindo as citações ao necessário.

Material e Métodos

Descrição concisa, sem omitir o essencial para a compreensão e reprodução do trabalho. Métodos e técnicas já estabelecidos devem ser apenas citados e referenciados. Métodos estatísticos devem ser explicados ao final dessa seção.

Resultados

O conteúdo deve ser informativo e não interpretativo: sempre que necessário devem ser acompanhados de tabelas, figuras ou outras ilustrações autoexplicativas.

Discussão

Deve ser limitada aos resultados obtidos no trabalho e o conteúdo deve ser interpretativo. Poderá ser apresentada como um elemento do texto ou juntamente aos resultados e conclusão. Enfatizar a importância de novos achados e novas hipóteses identificadas claramente com os resultados.

Tabelas

Elaboradas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e no final; e devem ser enviadas em formato editável (desejável excel). A legenda (título) é precedida da palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismos arábicos, devendo ser descritivas, concisas e inseridas acima das mesmas. As tabelas devem estar limitadas a um número mínimo necessário. Devem ser digitadas em espaço duplo em arquivos separados.

Figuras

As figuras, tais como: desenho, fotografia, prancha, gráfico, fluxograma e esquema, devem ser enviadas em formato .tif, .gif ou .jpg, com no mínimo de 300 dpi de resolução e numeradas consecutivamente. As legendas devem ser precedidas da palavra Figura, seguida da numeração em algarismo arábico e inseridas abaixo das mesmas. Listar as legendas numeradas com os respectivos símbolos e convenções, em folha separada em espaço duplo. O número de ilustrações deve ser restrito ao mínimo necessário. Fotografias digitais deverão ser enviadas em arquivos separados, como foram obtidas. Se a escala for dada às figuras, utilizar a escala BAR em todas as ilustrações ao invés de numérica, que pode ser alterada com a redução das figuras.

Conclusões

As conclusões podem estar inseridas na discussão ou em resultados e discussão, conforme a escolha dos autores. Nesse caso, esse item não será necessário.

Agradecimentos

Quando necessário, limitados ao indispensável.

Referências Bibliográficas

A lista de referências deverá ser apresentada em ordem alfabética e, posteriormente, ordenadas em ordem cronológica, se necessário. Mais de uma referência do(s) mesmo(s) autor(es) no mesmo ano deve ser identificada pelas letras "a", "b", "c", etc, inseridas após o ano de publicação. Títulos de periódicos devem ser abreviados conforme Index Medicus - <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>.

Livros

Levine JD. *Veterinary protozoology*. Ames: ISU Press; 1985.

Capítulo de livro

Menzies PI. Abortion in sheep: diagnosis and control. In: Youngquist RS, Threlfall WR. *Current therapy in large animal theriogenology*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 667-680.

Artigo de periódico

Paim F, Souza AP, Bellato V, Sartor AA. Selective control of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in fipronil-treated cattle raised on natural pastures in Lages, State of Santa Catarina, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2011; 20(1): 13-16.

Tese e Dissertação

Araujo MM. *Aspectos ecológicos dos helmintos gastrintestinais de caprinos do município de patos, Paraíba - Brasil* [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2002.

Documento eletrônico

Centers for Disease Control and Prevention. *Epi Info*[online]. 2002 [cited 2003 Jan 10]. Available from: <http://www.cdc.gov/epiinfo/ei2002.htm>.

Obs. Nas referências, apresentar os nomes dos seis primeiros autores; para referências com mais de seis autores, apresentar os seis primeiros nomes seguidos da expressão et al.

Citações

As citações devem seguir o sistema autor-data:

Um autor: nome do autor e ano de publicação

Levine (1985) ou (LEVINE, 1985)

Dois autores: os nomes dos autores e ano da publicação

Paim e Souza (2011) ou (PAIM; SOUZA, 2011)

Três ou mais autores: nome do primeiro autor seguido de “et al.” e o ano de publicação

Araújo et al. (2002) ou (ARAÚJO et al., 2002)

Prova Gráfica

O trabalho diagramado em formato pdf., será enviado por e-mail ao autor correspondente. Alterações no artigo, quando aceitas para publicação, devem ser realizadas nesse estágio, com permissão do editor-chefe. Portanto, o trabalho deve ser cuidadosamente corrigido antes de responder ao editor, pois inclusões de correções subsequentes (indicação de novo autor, mudança de parágrafos inteiros ou tabelas) não podem ser garantidas.