

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS**

Monyque Palagano da Rocha

**Impactos ambientais ocasionados por pisciculturas na
região de Dourados - MS**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL**

**DOURADOS/MS
FEVEREIRO/2019**

Monyque Palagano da Rocha

**Impactos ambientais ocasionados por pisciculturas na
região de Dourados - MS**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Heberth Juliano Vieira

COORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Kelly Mari Pires de Oliveira

Tese de doutorado submetida ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia Ambiental na área de concentração Ciência Ambiental.

DOURADOS/MS

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R672i Rocha, Monyque Palagano Da
Impactos ambientais ocasionados por Pisciculturas na região de Dourados - MS [recurso eletrônico] / Monyque Palagano Da Rocha. -- 2019.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Heberth Juliano Vieira .
Coorientador: Kelly Mari Pires de Oliveira .
Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Monitoramento ambiental. 2. Sanidade ambiental. 3. Perifiton. 4. Aquicultura. I. Vieira, Heberth Juliano. II. Oliveira, Kelly Mari Pires De. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

TERMO DE APROVAÇÃO



UFGD

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA PELA ALUNA **MONYQUE PALAGANO DA ROCHA**, DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "CIÊNCIA AMBIENTAL".

Aos 27 dias do mês de fevereiro de dois mil e dezenove, às 8h, em sessão pública, realizou-se, nas dependências da Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada "**Impactos ambientais ocasionados por pisciculturas na região de Dourados - MS**", apresentada pela doutoranda **Monyque Palagano da Rocha**, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, à Banca Examinadora constituída pelos professores Dr. Heberth Juliano Vieira/UFGD (presidente/orientador), Dr. Alessandro Minillo/UFGD (membro interno titular), Dr.^a Márcia Regina Russo/UFGD (membro interno titular), Dr. Emerson Machado de Carvalho/UFGD (membro externo titular), Dr. Júlio César Rodrigues de Azevedo/UTFPR (membro externo titular). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer a candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após a candidata ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições, que foram intercaladas pela defesa da candidata. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada ARROVADA, fazendo *jus* ao título de **DOUTORA EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**. Os membros da banca abaixo assinados atestam que o Prof. Dr. Júlio César Rodrigues de Azevedo participou de forma remota desta defesa de tese, considerando a candidata **Monyque Palagano da Rocha** conforme declaração anexa.. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Dourados, 27 de fevereiro de 2019.

Dr. Heberth Juliano Vieira

Dr. Alessandro Minillo

Dr.^a Márcia Regina Russo

Dr. Emerson Machado de Carvalho

Dr. Júlio César Rodrigues de Azevedo (participação remota)

ATA HOMOLOGADA EM: ___/___/___, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA/UFGD.

Pró-Reitoria de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa
Assinatura e Carimbo

TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

UFGD
Universidade Federal
da Grande Dourados

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA AMBIENTAL
LINHA DE PESQUISA: MONITORAMENTO FÍSICO, QUÍMICO E BIOLÓGICO PARA O
ESTUDO DE IMPACTOS AMBIENTAIS

DECLARAÇÃO DE PARTICIPAÇÃO À DISTÂNCIA - SÍNCRONA - EM BANCA DE DEFESA DE
DOUTORADO/ UFGD

Às 8h do dia 27/02/2019, participei de forma síncrona com os demais membros que assinam a ata física deste ato público, da banca de Defesa da Tese de Doutorado do candidato **Monyque Palagano da Rocha**, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental.

Considerando o trabalho avaliado, as arguições de todos os membros da banca e as respostas dadas pelo candidato, formalizo para fins de registro, por meio deste, minha decisão de que o candidato pode ser considerado: **APROVADA**.

Atenciosamente,

Júlio César Rodrigues de Azevedo

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus familiares e amigos, que foram fundamentais em todos os momentos de minha vida, dando-me força para que eu concluísse meu Doutorado.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela oportunidade de aprendizado e superação, me proporcionando saúde, equilíbrio e sabedoria para vivenciar e superar os momentos difíceis.

Ao Orientador Professor Dr. Heberth Juliano Vieira, pela orientação científica e por contribuir enormemente com minha formação profissional e pessoal. Obrigada pela confiança.

À Coorientadora Professora Dra. Kelly Mari Pires de Oliveira pelo apoio na elaboração de meu projeto de pesquisa. Sempre estive disposta a me ajudar quando necessitei. Obrigada pelo incentivo, para que não desanimasse e me dispusesse sempre a estudar e aprender mais, e pela cedência do LMA – Laboratório de Microbiologia Aplicada para a realização de minhas análises.

A Universidade da Grande Dourados juntamente com o programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, pelo apoio estrutural e científico.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (Fundect), pela concessão de bolsa de doutorado durante o período de estudo.

À técnica Ms. Renata Pires de Araújo, que me ajudou com as técnicas laboratoriais no LMA – Laboratório de Microbiologia Aplicada e em todas as coletas realizadas. Sempre estive a minha disposição quando precisei. Obrigada pelos conselhos e apoio no decorrer desses quatro anos.

À Ms. Isadora Cirele Santana, que me ajudou com as técnicas laboratoriais no LECA – Laboratório de Cromatografia e Espectrometria Aplicada. Não mensurou esforços para me ajudar quando precisei. Obrigada por estar presente em minha vida como uma amiga.

Ao Ms. Herbert Lee Barbosa Veríssimo de Barros, que me ajudou com as técnicas laboratoriais para a extração dos compostos orgânicos.

À Helene Mitsue Komori que me ajudou com as técnicas laboratoriais no LMA – Laboratório de Microbiologia Aplicada e em todas as coletas realizadas.

À Professora Dra. Alexeia Barufatti Grisolia pelo empréstimo da sonda multiparametro.

Aos meus amados familiares, pais e irmãs, meus grandes exemplos de vida e superação, que com amor incondicional me incentivaram e me apoiaram em todos os momentos e decisões na minha vida. À Jaci Palagano da Rocha, mais que uma mãe, minha melhor amiga, mulher forte e de grandes virtudes que tanto amo. Com conhecimento e sabedoria educou-me e ensinou-me a respeitar e amar o próximo. Obrigada pelo incentivo, por nunca me deixar desanimar, pelas conversas e discussões construtivas que sempre me guiam. Ao meu pai Antonio Monteiro da Rocha, com seu jeito singular, e de poucas palavras, no qual me espelho para sempre encarar as adversidades da vida

com força e determinação, ser perseverante e nunca desistir de nossos sonhos e objetivos.

Ao Fernando Aparecido dos Santos, que está sempre ao meu lado alegre e compreensivo, seu apoio foi fundamental frente às dificuldades enfrentadas. Um amigo incondicional e inseparável. Obrigada pelo amor e amizade, pelas conversas e pelo seu ombro amigo aturando minhas reclamações e desabafos! Agradeço por estar presente em minha vida, por me amar e me fortalecer.

À Vanessa da Rosa, Ero Borile, Eloise Balen e Priscila Leocádia Rosa Dourado, obrigada pela amizade, incentivo e compreensão. Agradeço pelas conversas, desabafos e momentos de distração. E também pelos momentos divertidíssimos que passamos juntas, entre jantinhas e cervejadas que sempre nos renderam boas risadas. Amigas que levo para vida, independente da distância, amo vocês.

À banca examinadora Dr. Alessandro Minillo, Dr. Emerson Machado de Carvalho, Dr. Júlio César Rodrigues de Azevedo e Dra. Márcia Regina Russo, por aceitarem o convite e pelas valiosas correções.

Muito obrigado!

RESUMO

O Brasil é um país rico em recursos hídricos e possui clima extremamente favorável para o desenvolvimento de pisciculturas. A busca para suprir a fome no mundo vem intensificando a aquicultura, devido ao alto valor energético da carne do pescado. Com o aumento da produção há também o aumento dos impactos ambientais ocasionados por essa prática. Para se ter maior rentabilidade na produção do pescado, produtores estão utilizando o perifíton que cresce em substratos artificiais como uma forma de alimentação para os peixes, mas a composição, estrutura e quais microrganismos habitam essa comunidade não está completamente esclarecida e divulgada na literatura. Assim, o objetivo geral desta pesquisa foi avaliar a sanidade das pisciculturas, a qualidade da água e os possíveis impactos que os efluentes possam ocasionar aos corpos d'água que os recebem. Para tal objetivou-se identificar grupos de bactérias patogênicas (*E.coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., e *Salmonella* spp.) no perifíton desenvolvido em substratos artificiais de politereftalato de etileno (PET) instalados em sistemas de piscicultura, e relacionar a presença destas com a sanidade da piscicultura. Também objetivou-se avaliar os aspectos físicos, químicos e microbiológicos da água de entrada, saída e dos respectivos tanques da piscicultura. Todos os parâmetros físicos estavam de acordo com as especificações da Resolução nº 357 de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. A presença das bactérias patogênicas (*E. coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp.) no perifíton e na água dos tanques indicaram a contaminação bacteriológica no ambiente, interferindo assim, na sanidade da piscicultura e dos córregos que recebem seus efluentes. Todos os valores obtidos na análise de fósforo total estavam acima do limite permitido de 0,050 mg/L segundo o CONAMA. A Análise Discriminante permitiu distinguir os pontos amostrais (entrada, meio e saída) das diferentes pisciculturas. Com dendrograma obtido pela HCA, observou-se a formação de dois principais agrupamentos, um apresentado pelas amostras dos tanques meio e saída, e outro contendo as amostras do tanque entrada. Conclui-se que a contaminação microbiológica do perifíton pode inviabilizar a recente prática proposta, utilizada por alguns piscicultores, da inserção do perifíton como suplemento alimentar para os peixes, devido a contaminação cruzada que os peixes receberam. A falta de boas práticas de cultivo e fiscalização, permitem que o produtor não realize o monitoramento da qualidade da água e da sanidade das pisciculturas, o que acarreta também danos aos corpos d'água que recebem os efluentes sem tratamento.

Palavras chave: Monitoramento ambiental, Sanidade ambiental, Perifíton, Aquicultura.

ABSTRACT

Brazil is a country rich in water resources and has an extremely favorable climate for the development of fish farms. The quest to suppress hunger in the world has been intensifying aquaculture, due to the high energy value of fish meat. With the increase in production there is also an increase in the environmental impacts caused by this practice. In order to have greater profitability in fish production, producers are using the periphyton that grows on artificial substrates as a form of food for fish, but the composition, structure, and microorganisms that inhabit this community is not fully understood and disseminated in the literature. Thus, the general objective of this research was to evaluate the sanity of fish farms, water quality and the possible impacts that the effluents can cause to the bodies of water that receive them. For this purpose we aimed to identify groups of pathogenic bacteria (*E.coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., and *Salmonella* spp.) in the periphyton developed on artificial polyethylene terephthalate (PET) substrates installed in fish farming systems, and to relate their presence to the sanity of fish farming. The objective was also to evaluate the physical, chemical and microbiological characteristics of incoming and outgoing water and their fish tanks. All physical parameters were in accordance with the specifications of Resolution N°. 357 of 2005 of the Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. The presence of pathogenic bacteria (*E. coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp.) in the periphyton and in the water of the tanks indicated the bacteriological contamination in the environment, in the sanity of fish farming and the streams that receive its effluents. All values obtained in the analysis of total phosphorus were above the allowed limit of 0.050 mg / L according to CONAMA. The Discriminant Analysis made it possible to distinguish (input, medium and output) of the different fish farms. With dendrogram obtained by HCA, observed whether the formation of two main groupings, one presented by the samples of the medium tanks and output, and another containing the samples from the tank input. It is concluded that the microbiological contamination of the periphyton may make the recent proposed practice unfeasible, used by some fish farmers, of the insertion of the periphyton as food supplement for fish, due to the cross contamination that the fish received. The lack of good practices of cultivation and inspection, allow the producer to not monitor water quality and the sanity of fish farms, which also causes damage to the bodies of water that receive the effluent without treatment.

Key Words: Environmental monitoring, Environmental sanitation, Periphyton, Aquaculture.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Distribuição hídrica no Brasil	10
2.2 Pisciculturas no Brasil	10
2.3 Impactos ambientais ocasionados por pisciculturas em ambientes aquáticos..	12
2.4 Ferramentas para o monitoramento das pisciculturas	13
2.5 Utilização da comunidade perifítica aderida ao substrato artificial para o monitoramento ambiental	14
3. OBJETIVOS	16
3.1 Objetivo Geral	16
3.2 Objetivo Específico	16
4. CAPÍTULO I - Isolamento de bactérias Gram negativas no perifíton de substratos artificiais instalados em sistemas de piscicultura	17
Resumo	18
Abstract	19
4.1. Introdução	19
4.2. Materiais e Métodos	20
4.3. Resultados e Discussão	25
4.4. Conclusão	28
4.5. Agradecimentos	29
4.6. Referências	29
5. CAPÍTULO II - Impactos ambientais ocasionados por pisciculturas em ambientes aquáticos	33
Resumo	34
Abstract	35
5.1. Introdução	35
5.2. Materiais e Métodos	36
5.3. Resultados e Discussão	40
5.4. Conclusão	59
5.5. Agradecimentos	50
5.6. Referências	50

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
7. REFERÊNCIAS	56

1. INTRODUÇÃO

A região de Dourados está localizada no sudoeste do estado de Mato Grosso do Sul, ao sul da bacia do rio Paraná, pertencendo a sub bacia hidrográfica do Rio Brilhante (FERREIRA e SILVA, 2016). A abundância de água, faz com que a piscicultura seja uma das alternativas para a diversificação econômica dos produtores rurais (TORRES et al., 2017). Juntamente com o aumento da prática da criação do pescado, surge a preocupação com os impactos ao meio ambiente que as pisciculturas trazem, principalmente para a água.

A principal influência da piscicultura sobre a qualidade da água é o aumento direto dos sólidos suspensos e dos nutrientes decorrentes da matéria orgânica introduzida no ambiente, por meio da ração não consumida pelos peixes, fezes e subprodutos do metabolismo (FERREIRA e BARCELOS, 2008; AZEVEDO et al., 2011) e indireto por meio da eutrofização da água e pelo aumento da produtividade primária (TACON e FOSTER, 2003).

O real impacto que as atividades aquícolas vêm causando ao ambiente aquático foi observado por vários autores, como a alteração nos parâmetros físicos e químicos (TORRES et al., 2017); aumento do fluxo de partículas e nutrientes dissolvidos no ambiente (CANALE et al., 2016); contaminação por compostos químicos (antibióticos, antiparasitários, anestésicos e desinfetantes) (BURRIDGE et al., 2010) e a contaminação bacteriana (SOBRINHO et al., 2017).

Outra prática que nos chama a atenção, é a utilização de substratos artificiais para o desenvolvimento da comunidade perifítica em tanques de pisciculturas, no intuito de se reduzir a quantidade de ração fracionada nos tanques de cultivo, uma vez que o perifíton serve de alimento para alguns grupos de peixes onívoros (DAVID et al., 2018; JHA et al., 2018). A composição e a estrutura da comunidade perifítica que se desenvolve nestas condições não está completamente esclarecida e divulgada na literatura, fato que se justifica a necessidade de mais estudos nessa área, pois não se sabe quais microrganismos habitam essa comunidade e o quão patogênicos eles podem ser para os peixes que os consomem e para a sanidade do ambiente (DAVID et al., 2018).

Com o intuito de se avaliar a sanidade do ambiente, a qualidade da água e os possíveis impactos que os efluentes das pisciculturas possam ocasionar aos corpos d'água que os recebem, utilizou-se parâmetros físicos e químicos, isolamento de bactérias patogênicas (*E.coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., e *Salmonella* spp.) do perifíton desenvolvido em substrato artificial (PET) e da água, em duas pisciculturas nas região da Grande Dourados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Distribuição hídrica no Brasil

O planeta terra é coberto por 70 % de água, mas, somente 2,5% desta é classificada como água doce, sendo distribuídas 68,9% nas calotas polares e geleiras que cobrem cumes de montanhas, 29,9% estão presentes nas águas doces subterrâneas, 0,9% compõem a umidade de solo e água de pântanos e cerca de 0,3% formam os rios e lagos (REBOUÇAS, et al., 2002).

O Brasil conta com 13,7% de toda a água doce do planeta, e estas estão distribuídas em oito bacias hidrográficas, sendo estas: Amazônica (73,2%), Tocantins (6,5%), Paraná (6,0%), Atlântico N/NE (5,0 %), Atlântico Leste (2,4%), Atlântico Sudeste (2,4%), Uruguai (2,3%), São Francisco (1,6%) e Paraguai (0,7%) (MMA, 2018).

O estado de Mato Grosso do Sul está situado nas bacias do Rio Paraná e Paraguai, e a abundância de água, faz com que a piscicultura seja uma das alternativas para a diversificação econômica dos produtores rurais (TORRES et al., 2017). Já o município de Dourados, localiza-se na região sudoeste de Mato Grosso do Sul, ao sul da bacia do rio Paraná, pertencendo a sub bacia hidrográfica do Rio Brilhante, que corresponde há 27,2% da área total da bacia do Rio Ivinhema (FERREIRA e SILVA, 2016).

2.2 Pisciculturas no Brasil

A produção global de alimentos através da aquicultura vem crescendo rapidamente, e hoje o pescado apresenta 35% do consumo geral de carnes (SEBASTIÃO et al., 2010). Com as atuais políticas públicas voltadas ao setor pesqueiro e aquícola, atingimos em 2017 a marca de 559.320 toneladas de produção aquícola (IGGE, 2018), onde 225 mil toneladas foram provenientes da pesca continental (FAO, 2018).

O Brasil hoje produz aproximadamente 1 milhão de toneladas/ano de pescado, gerando um PIB pesqueiro de R\$ 5 bilhões, empregando 800 mil profissionais entre

pescadores e aquicultores e gerando 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos. Em 2014, a aquicultura movimentou mais de US\$ 140 bilhões pela comercialização do pescado, devido ser a atividade de produção que mais cresce no mundo atualmente (FAO, 2014).

O potencial de crescimento é expressivo e o Brasil pode se tornar um dos maiores produtores mundiais de pescado (KUBITZA, 2007). O Brasil ocupa a 13ª posição no ranking geral dos maiores produtores de pescado, produzindo 225.000 toneladas de pescado. Kubitza (2015) relata que, apesar de o país ser um grande produtor de frango, bovinos e suínos, a aquicultura foi o setor de carnes que apresentou maior incremento percentual em produção entre 2004 e 2014, com crescimento anual médio de quase 8%, contra 5,1% para bovinos, 4,1% para o frango e 2,9% para suínos.

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2016), da produção nacional de pescado, o Nordeste apresentou a maior participação de mercado no país, com 26,8% (sendo Ceará o principal destaque). Logo após a região Norte, responde com 25,7% (com Rondônia, que é o maior produtor nacional); a região Sul, com 24,2% (concentrando a produção no Paraná e em Santa Catarina); a região Centro-Oeste, com 12,6% (principalmente por Mato Grosso); e o Sudeste, com 10,7% (com relevância na produção de São Paulo e de Minas Gerais).

Em termos de produção por regiões, a região Centro Oeste ocupa o quinto lugar no ranking de produção aquícola continental com a produção de 72.129.828 toneladas, sendo que o Estado de Mato Grosso lidera com 36.653.068 toneladas, Mato Grosso do Sul com 18.087.117 toneladas, Goiás com 16.569.252 toneladas, e o Distrito Federal com 820.391 toneladas (IBGE, 2018).

A microrregião de Dourados tem grande representatividade para o setor aquícola estadual, correspondendo a 60% da produção do Mato Grosso do Sul. Em 2017, Dourados teve uma produção aquícola de 449.037 toneladas de pescado ao ano (IBGE, 2018). Pode-se elencar que a distribuição geográfica do estado e do Brasil é um fator fundamental para esse desenvolvimento, uma vez que a disponibilidade de água é um fator que tem desencadeado cada vez mais a prática da aquicultura como uma fonte de renda.

2.3 Impactos ambientais ocasionados por pisciculturas em ambientes aquáticos

Os impactos ocasionados pela piscicultura podem ser classificados como internos: aqueles que interferem no próprio sistema de criação, como a redução de oxigênio dissolvido em um viveiro, externos que se estendem a um quilômetro à jusante da descarga de efluentes e os regionais, quando os efeitos sobre os ambientes aquáticos atingem uma escala espacial de vários quilômetros (SILVER, 1992).

A utilização de rações e o consequente manejo nutricional dos peixes definem a o gral do impacto ambiental causado pela piscicultura pois as sobras alimentares e as fezes dos animais são os principais poluentes em efluentes de piscicultura intensiva (STEPHENS e FARRIS, 2004; BACCARIN e CAMARGO, 2005; CYRINO et al., 2010). Entre as alterações na qualidade da água decorrentes à produção de pescado estão: o aumento no nível de nutrientes, turbidez e matéria orgânica no sedimento, diminuição da diversidade e biomassa de organismos bentônicos, redução de transparência, de concentração de oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, quedas no pH, e as vezes a mudança na temperatura da água (AMÉRICO et al., 2013).

No Brasil as doenças bacterianas em pisciculturas ocorrem de forma secundária, devido basicamente às deficiências de manejo, baixa qualidade de água e uso indiscriminado de substâncias químicas, entre este, os antibióticos (COSTA, 2002). Carvalho-Varela (2005), relata que o uso indiscriminado de antibióticos e de antiparasitários nos peixes não afeta somente a situação sanitária dos peixes, mas também ao meio ambiente, pois seu excesso fica dissolvido na água e conseqüentemente vai para os rios.

Dentre os principais fármacos utilizados na piscicultura e considerados de importância devido às quantidades consumidas, toxicidade e persistência no ambiente, estão os antiparasitários, antifúngicos e antibióticos (FENT et al., 2006; MORLEY, 2009). Embora o tratamento com antibióticos seja, talvez, a maneira mais rápida de responder a uma doença bacteriana na aquicultura, ele também pode ser contraproducente, porque os antibióticos também podem causar um aumento na

virulência dos patógenos, ocasionando assim um desequilíbrio na sanidade do ambiente (BARBIERI et al., 2014).

Com a intensificação dos sistemas de produção de peixes no Brasil, cuidados com a qualidade da água se fazem necessários, no intuito de prevenir eventuais perdas e para garantir a manutenção da qualidade da água e condições adequadas para criação dos organismos aquáticos. Assim essas condições exigem o manejo efetivo e assegura a sustentabilidade, tornando um dos aspectos mais importantes e complexos que envolvem as práticas aquícolas (MACEDO e SIPAÚBA-TAVARES, 2010; JÚNIOR et al., 2018).

2.4 Ferramentas para o monitoramento das pisciculturas

Estudos de monitoramento da qualidade da água em pisciculturas tem sido desenvolvido por vários autores, e dentre as principais ferramentas utilizadas estão as análises físicas e químicas (oxigênio dissolvido, pH, turbidez, condutividade elétrica, sólidos totais dissolvidos e temperatura) (SAMPAIO et al., 2013; NABIRYE et al., 2016), compostos nitrogenados (amônia, nitrito e nitrato) e ortofósforo (AHNEN et al., 2016; ARDIANSYAH e FOTEDAR, 2016), microbiológicas, como *E. coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp. e *Salmonella* spp. (MOORE et al., 2014; HARNISZ et al., 2015; CHENIA, 2016;) e químicas na detecção de fármacos e metais na água (AZMAT et al., 2016; HE et al., 2016).

Aliar diferentes técnicas para o monitoramento auxilia na compreensão da complexidade dos ecossistemas com dados obtidos em procedimentos padronizados e conhecidos globalmente, da mesma forma que amplia a sensibilidade e a robustez dos ensaios e minimiza seus erros (AGRA et al., 2012). Brandimarte et al. (2007) afirmam que a junção das análises físicas, químicas e biológicas da água são fundamentais para se ter uma maior confiabilidade dos resultados, de forma a indicar os impactos das ações antrópicas nos cursos d'água.

Henry-Silva e Camargo (2008) afirmam que à medida que a produção de organismos aquáticos se intensifica, os impactos negativos sobre o ambiente aumentam.

Assim, o monitoramento das pisciculturas pode contribuir como uma ferramenta de controle ambiental, uma vez que ao se realizar um pool de análises, o produtor saberá qual é o nível de contaminação que o efluente de sua produção está carreando para um curso d'água.

2.5 Utilização da comunidade perifítica aderida ao substrato artificial para o monitoramento ambiental

O perifíton é classificado como uma comunidade complexa que vive aderida a um substrato, constituído por microrganismos (algas, bactérias, fungos e animais), detritos orgânicos e inorgânicos aderidos a substratos inorgânicos ou orgânicos vivos ou mortos (WETZEL, 1983; SLÁDECKOVÁ, 1994).

Cerca de 90% da comunidade perifítica é de produtores primários, principalmente algas, o que o torna importante na base alimentar para as cadeias tróficas (WETZEL, 1990). Além de serem ricos em proteínas, vitaminas e minerais servem de alimento para muitos organismos aquáticos, tais como peixes e a fauna bentônica (MOSCHINI-CARLOS, 1999).

Segundo Sládecková (1994), as algas perifíticas são utilizadas como bioindicadores da qualidade da água e de seu estado trófico, devido a sua capacidade de acumular grandes nutrientes e poluentes como inseticidas, herbicidas e fungicidas, metais pesados e materiais orgânicos, além de servirem como habitat para vários tipos de microrganismos.

A utilização do substrato artificial para o desenvolvimento da comunidade perifítica é observada por alguns autores (PEREIRA et al., 2010; ROCHA et al., 2015; SIGNOR et al., 2015), e dentre os materiais mais utilizados para o desenvolvimento e aderência do perifíton estão o vidro, acrílico, madeira, cerâmica e plástico. O uso do PET como substrato artificial vem crescendo por ser um material de baixo custo, fácil manuseio é quimicamente inerte, que não fornece nutrientes ao perifíton.

A identificação das bactérias que compõem a comunidade perifítica é de suma importância para a ciência, pois além de não ser divulgado na literatura quais grupos de bactérias são encontrados nesse biofilme, permite nos averiguar a real contaminação

que o ambiente aquático recebe, pois se controla o tempo de contato do substrato com a água, não sofrendo o efeito acumulativo que o substrato natural (sedimento) apresenta.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a sanidade das pisciculturas, a qualidade da água e os possíveis impactos que os efluentes possam ocasionar aos corpos d'água que os recebem, através de parâmetros físicos, químicos e análises microbiológicas do perifíton e da água.

3.2 Específicos

- Analisar as condições físicas e químicas da água das pisciculturas (oxigênio dissolvido, potencial de oxirredução, potencial hidrogeniônico, temperatura, condutância e sólidos totais dissolvidos);
- Avaliar a presença de microrganismos patogênicos (*E.coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., e *Salmonella* spp.) presentes no perifíton e na água;
- Correlacionar os parâmetros de qualidade da água com os pontos de coleta de cada piscicultura.
- Avaliar a metodologia da análise discriminante linear na classificação dos pontos de amostragem empregando os parâmetros físicos, químicos e microbiológicos.

4. CAPÍTULO 1

BACTÉRIAS PATOGÊNICAS ISOLADAS DA COMUNIDADE PERIFÉRICA DE SUBSTRATOS ARTIFICIAIS INSTALADOS EM PISCICULTURA

Bactérias patogênicas isoladas da comunidade perifítica de substratos artificiais instalados em piscicultura

Monyque Palagano da Rocha¹, Kelly Mari Pires de Oliveira², Heberth Juliano Vieira¹

¹ Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia – FACET, Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, Rodovia Dourados - Itahum, Km 12, Cidade Universitária. Caixa Postal 533, CEP: 79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil

² Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – FCBA, Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, Rodovia Dourados - Itahum, Km 12, Cidade Universitária. Caixa Postal 533, CEP: 79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil

Resumo

O perifíton complexa comunidade constituída por algas, fungos e bactérias desenvolvidos em substratos artificiais vem sendo utilizado na alimentação do pescado como uma forma de se reduzir a quantidade de ração fracionada nos tanques. A composição e estrutura da comunidade perifítica não está completamente esclarecida e divulgada na literatura, o que se sobressai a necessidade de se ter mais estudos nessa área, pois não se sabe quais microrganismos habitam essa comunidade e o quão patogênicos eles podem ser para os peixes que os consomem e para a sanidade do ambiente. Assim, este trabalho teve como objetivo identificar alguns grupos de bactérias patogênicas (*E. coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., e *Salmonella* spp.) no perifíton desenvolvido em substratos artificiais de politereftalato de etileno (PET) instalados em pisciculturas, e relacionar a presença destas com a sanidade da piscicultura. O PET se mostrou eficaz para o desenvolvimento da comunidade perifítica, além de ser um material de baixo custo é de fácil manuseio. Foi possível isolar *E. coli* e *Pseudomonas* spp. do perifíton em todos os pontos de coletas. As práticas de trabalho (criação de pescado e de outros animais (porco, gado e ovelha) em ambas as pisciculturas) podem estar contribuindo para a contaminação microbiológica dos tanques. O PET nos permitiu controlar o tempo de exposição do substrato com a lâmina d'água e se ter a real contaminação do ambiente num período de 30 dias. Ressaltamos cautela com a inserção do perifíton na alimentação dos pescados, em razão das bactérias patogênicas presentes na comunidade perifítica, pois, podem interferir na sanidade da piscicultura e do pescado que as ingerem. O processo de monitoramento contínuo dos tanques deve ser considerado como uma prática de manejo dos piscicultores, pois este previne que doenças se alastrem e que peixes fiquem imunodebilitados pelas condições sanitárias do ambiente, reduzindo perdas com a mortandade e prejuízos financeiros.

Palavras Chave: Bactérias Patogênicas; Sanidade; Aquicultura; Perifíton.

Abstract

The periphyton complex community consisting of algae, fungi and bacteria developed on artificial substrates has been used in fish feed as a way of reduce the amount of fractionated feed in the tanks. The composition and structure of the periphyton community is not completely clarified and disseminated in the literature, which highlights the need to have more studies in this area, because it is not known which microorganisms inhabit this community and how pathogenic they may be for the fish that consume them and for the sanity of the environment. Thus, this work aimed to identify some groups of pathogenic bacteria (*E. coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., and *Salmonella* spp.) in the periphyton developed on artificial substrates of polyethylene terephthalate (PET) installed in fish farms, and to relate their presence to the sanity of fish farming. PET was effective for the development of the peripheral community, besides being a low-cost material is easy to handle. It was possible to isolate *E. coli* and *Pseudomonas* spp. of the periphyton at all points of collection. Work practices (raising fish and other animals (pig, cattle and sheep) in both fish farms) may be contributing to the microbiological contamination of the tanks. PET allowed us to control the exposure time of the substrate with the water slide and to have the actual contamination of the environment in a period of 30 days. We stress caution with the insertion of the periphery in fish feed, due to the pathogenic bacteria present in the periphery community, therefore, may interfere with the health of fish and fish that ingest them. The process of continuous monitoring of tanks should be considered as a management practice for fish farmers, because it prevents diseases from spreading and that fish are immunodebilized by the sanitary conditions of the environment, reducing losses with mortality and financial losses.

Key Word: Pathogenic Bacteria; Sanity; Aquaculture; Periphyton.

4.1. INTRODUÇÃO

O perifíton, complexa comunidade composta por microrganismos (algas, bactérias, fungos e animais), detritos orgânicos e inorgânicos aderidos a substratos inorgânicos ou orgânicos vivos ou mortos (BATTIN et al., 2007; DAVID et al., 2018), é o principal responsável pela produção primária total do ambiente aquático (WETZEL, 1990; GONZALEZ-RODRIGUEZ et al., 2017). Rico em proteínas, vitaminas e minerais, o perifíton serve de alimento para muitos organismos aquáticos, peixes, insetos e para a fauna bentônica, tornando o importante na base alimentar para as cadeias tróficas (MOSCHINI-CARLOS, 1999, JHA et al., 2018).

A utilização de substratos artificiais para o desenvolvimento da comunidade perifítica em tanques de pisciculturas vem sendo utilizado no intuito de se reduzir a quantidade de ração fracionada nos tanques de cultivo e fazer com que parte dos

nutrientes perdidos pela lixiviação da ração e excreção, sejam convertidos em biomassa perifítica. Além de servir como alimento adicional para os organismos cultivados, o perifíton tem a capacidade de remover os nutrientes biodisponíveis na coluna d'água por meio da ciclagem de nutrientes (DAVID et al., 2018; JHA et al., 2018).

Muitas espécies de peixes de água doce comercializadas nas pisciculturas (Tilápia, Lambari, Pacu, Tambaqui) se alimentam de níveis tróficos mais baixos e possuem a habilidade de utilizar alimento natural (por exemplo, perifíton), como um alimento suplementar (CHRISTOPHER et al, 2014; DAVID et al., 2018). A composição e estrutura da comunidade perifítica não está completamente esclarecida e divulgada na literatura, o que se sobressai a necessidade de mais estudos nessa área, pois não se sabe quais microrganismos que habitam essa comunidade e o quão patogênicos eles podem ser para os peixes que os consomem e para a sanidade do ambiente (DAVID et al., 2018).

Os microrganismos fixam-se à comunidade perifítica em forma de biofilme, como uma comunidade/ consórcio/ cadeia alimentar de microrganismos aderidos à uma superfície sólida e embutidos em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) produzida pelos próprios microrganismos, organizada em estruturas complexas similares a favos de mel que contém carboidratos, proteínas e ácidos graxos em um ambiente com líquidos e que lhes confere resistência mecânica e antimicrobiana (SOUZA et al., 2017).

O monitoramento da sanidade da piscicultura através do isolamento de microrganismos da comunidade perifítica é importante pois não se tem estudos difundidos nessa área e também permite verificar a real contaminação que o ambiente se encontra, uma vez que o tempo de contato do substrato artificial com a água é controlado e não sofre o efeito acumulativo como o sedimento. Assim, este trabalho teve como objetivo identificar grupos de bactérias patogênicas (*E.coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., e *Salmonella* spp.) no perifíton desenvolvido em substratos artificiais (PET) instalados em sistemas de piscicultura, e relacionar a presença destas com a sanidade da piscicultura.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1. Locais de estudo

O estudo foi realizado em duas pisciculturas na região da Grande Dourados em Mato Grosso do Sul, Tabela 1.

Tanto a Psci. 1 quanto a Pisc. 2 estão inseridas na microbacia do Rio Brilhante (Figura 1), os pontos de coleta nas pisciculturas foram delimitados da seguinte forma:

- Ponto 1 (P1) – Localizado no canal que distribui a água da nascente para a piscicultura, início da piscicultura;
- Ponto 2 (P2) – Localizado no tanque de cultivo, dentro da piscicultura;
- Ponto 3 (P3) – Localizado no canal que deságua os efluentes da piscicultura para o córrego, saída da piscicultura.

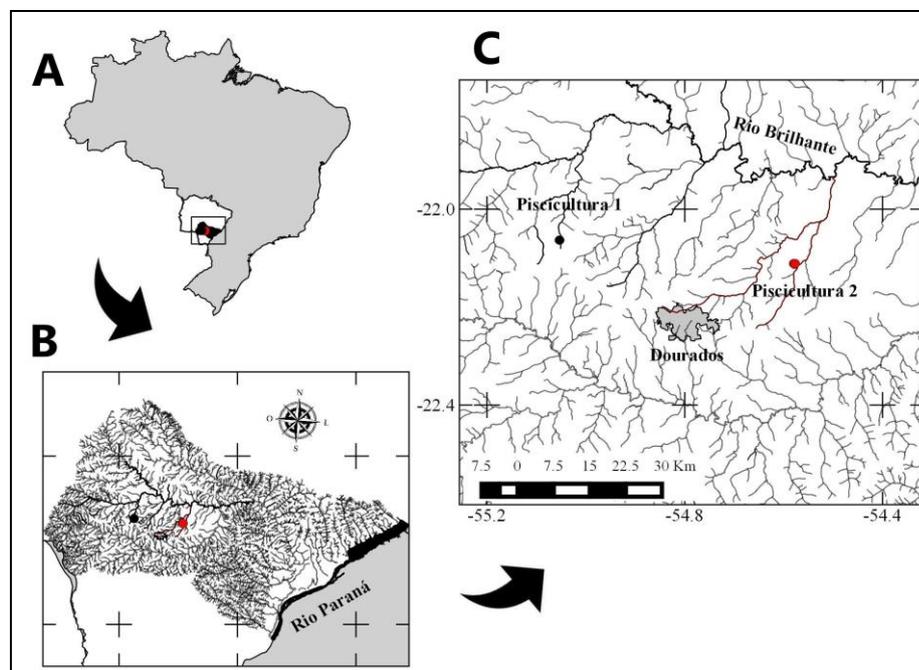


Figura 1: Delimitação das Pisciculturas na micro bacia hidrográfica do Rio Brilhante.

Legenda: A – Mapa do Brasil delimitando o estado de Mato Grosso do Sul e a bacia hidrográfica do Rio Ivinhema, B – Bacia hidrográfica do Rio Ivinhema destacando a micro bacia do Rio Brilhante, C – Pisciculturas inseridas na micro bacia do Rio Brilhante.

Autor: FERREIRA, F. S., 2019.

Tabela 1 – Descrição das práticas de cultivo nas pisciculturas.

Locais de coleta	Características das Pisciculturas						
	Tipo de cultivo	Espécies cultivadas	Alimentação	Proteção de lona no fundo dos tanques	Aeração	Uso de adubação nos tanques antes do início do cultivo	Objetivo
Piscicultura 1	Engorda	Lambari (<i>Astyanax lacustris</i>)	Ração comercial	Não há	Não há	Não há	Comercial
Piscicultura 2	Engorda	Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>), Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>), Dourado (<i>Salminus brasiliensis</i>) e Patinga (cruzamento do Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) com a Pirapitinga (<i>Piaractus brachipomus</i>)	Ração comercial	Não há	Não há	Não há	Subsistência

4.2.2. Coleta, armazenamento e extração das amostras

Para o crescimento da comunidade perifítica foram utilizadas lâminas (5 cm x 20 cm) de PET como substrato artificial, suporte quimicamente inerte, de baixo custo e fácil manuseio. Foram instaladas cinco lâminas por ponto de coleta há uma profundidade de 20 cm por 30 dias antes de cada coleta, período este, considerado favorável para a formação da comunidade perifítica (Figura 2) (POMPÊO e MOSCHINI-CARLOS, 2003).

As lâminas de perifíton foram coletadas após 30 dias, armazenadas em sacos plásticos estéreis separados por ponto de coleta e transportadas sob refrigeração até o laboratório. Para auxiliar na extração do perifíton aderido as lâminas de PET, utilizou se lâminas de aço inoxidável e 200 mL de água destilada esterilizada.

O procedimento de extração foi realizado em câmara de fluxo laminar para evitar a contaminação da amostra. A amostra foi armazenada em frascos de vidro com tampa esterilizados e submetida ao vórtex para a homogeneização.



Figura 2: Lâminas confeccionadas de PET após 30 dias submersas no tanque da piscicultura.

Fonte: ROCHA, M. P., 2017.

4.2.3. Análises Microbiológicas

4.2.3.1. Coliformes Totais e *E. coli*

Os coliformes totais e *E. coli* foram determinados pela técnica de presença e ausência do substrato cromogênico e fluorogênico do Colilert® (IDEXX Laboratories, Inc 2012). Foram adicionados 100 mL da amostra do perifíton em frascos de análise e adicionado o substrato, após incubou a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Para critérios de interpretação do Colilert®, a cor amarela indicou a presença de coliformes totais e fluorescência sob uma luz ultravioleta de 360nm, indicou a presença de *E. coli*.

Para o isolamento da *E. coli* foi adicionado 1 mL do líquido da análise do Colilert em 9 mL do caldo seletivo EC Broth (HIMEDIA) e encubado a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Após esse período, foi estriado a amostra por esgotamento em agar EMB (HIMEDIA) em duplicata. Por se tratar de meios seletivos e específicos, as colônias que apresentaram o brilho verde metálico foram consideradas como *E. coli*, segundo as recomendações do fabricante.

4.2.3.2. Pesquisas de *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas* spp.

Para o enriquecimento da amostra, foram adicionados 1 mL da amostra do perifíton em tubo de ensaio contendo 9 mL de Água Peptonada Tamponada (HIMEDIA) e incubados à temperatura de 30°C por 24 horas. Após o período de incubação, alíquotas das culturas foram semeadas em duplicata com auxílio da alça bacteriológica, na superfície do agar *Aeromonas* Medium Base (Ryan) (OXOID). As placas foram, então, colocadas em estufa à temperatura 32°C , por 24 horas conforme especificações do fabricante (APHA, 2005; SILVA, et al., 2017). As UFC com as características indicada pelo fabricante foram identificadas nas placas de petri.

4.2.3.3. Pesquisa de *Salmonella* spp.

Para pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizado o pré-enriquecimento de 25 mL de amostra em 225 mL de Água Peptonada Tamponada (HIMEDIA), e o enriquecimento seletivo em Caldo Selenito Cistina (SC) (ISOFAR) e Caldo de Rappaport Vassiliadis (RV) (ISOFAR). Para o isolamento do microrganismo foi utilizado o Hektoen Enteric Agar (ISOFAR) (APHA, 2005; SILVA et al., 2017). As colônias com o halo transparente e ponto negro central foram selecionadas e triadas por

métodos bioquímicos TSI (Agar Tríplice Açúcar Ferro), MIO (Motilidade, Indol e Ornitina) e Ureia para a confirmação da espécie (APHA, 2005; SILVA, et al., 2017).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Desenvolvimento da Comunidade Perifítica

A utilização do PET como substrato artificial para o desenvolvimento da comunidade perifítica se mostrou eficaz, pois foi possível observar a formação do perifíton nas lâminas em todas as coletas. O tempo estipulado de 30 dias submersos em água conforme literatura foi obedecido para que tivéssemos uma comunidade madura, no estágio clímax (POMPÊO e MOSCHINI-CARLOS, 2003).

Tippet (1970) relata que o padrão sazonal do crescimento da comunidade perifítica em substratos artificiais, quando comparados com os naturais, são menores. Em nosso trabalho, a disponibilidade de nutrientes na água devido à excessiva entrada de nutrientes via alimento para o peixe pode ter favorecido o crescimento da comunidade perifítica no PET (LEIRA et al., 2017).

Por ser um material de baixo custo, o PET pode ser indicado como um substrato artificial no monitoramento da comunidade perifítica. A literatura revela outros estudos com resultados satisfatórios no desenvolvimento da comunidade perifítica utilizando o PET como substrato artificial (PEREIRA et al., 2010; ROCHA et al., 2015).

4.3.2 Isolamento das bactérias

O isolamento de bactérias provenientes da comunidade perifítica é um estudo pouco difundido na literatura, assim utilizamos técnicas já padronizadas para desenvolver as análises. Os resultados das análises microbiológicas estão expostos na Tabela 2.

Foi possível observar a presença da *E. coli* em todos os pontos e coletas realizadas nas pisciculturas. A bactéria *E. coli* é comumente encontrada em pesquisas de ambientes aquáticos (ROCHA et al., 2018; IBRAHIM et al., 2019; MATHAI et al., 2019), e sua presença na água está diretamente relacionada com a contaminação por fezes de animais ou humanos, uma vez que seu habitat primário é o trato intestinal destes (LANDGRAF e FRANCO, 1996). Ambas as pisciculturas possuem criação de

animais (suínos e bovinos), fato este que pode ter contribuído para o isolamento da *E.coli* até mesmo na nascente (P1).

Tabela 2 – Microrganismos isolados da comunidade perifítica aderida ao substrato artificial (PET) 30 dias submersos em sistemas de pisciculturas.

Locais/ Coletas	Pontos	Microrganismos Isolados				
		<i>E. coli</i>	<i>Aeromonas spp.</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Salmonella spp.</i>	
Piscicultura 1	1	x	x	x	x	
	1°	2	x	x	x	x
		3	x	-	x	x
		1	x	x	x	x
	2°	2	x	x	x	x
		3	x	x	x	x
		1	x	x	x	-
	3°	2	x	x	x	-
		3	x	x	x	x
1		x	x	x	x	
Piscicultura 2	1	x	x	x	x	
	1°	2	x	-	x	-
		3	x	x	x	x
		1	x	x	x	x
	2°/ Pisc.1	2	x	-	x	x
		3	x	x	x	x
		1	x	x	x	x
	3°/ Pisc.1	2	x	x	x	x
		3	x	x	x	x
1		x	x	x	x	

Nota: (x) – Presença, (-) – Ausência do microrganismo.

A presença da bactéria *Aeromonas spp.* foi observada em ambas as pisciculturas. Segundo Leira et al. (2017) e Kim et al. (2018) *Aeromonas spp.* são as principais causadoras de doenças em peixes, os sinais clínicos são lesões de pele, superficiais ou profundas, que podem progredir para úlceras e quadros típicos de septicemia. As pisciculturas estudadas são abastecidas por nascentes e a água transpassa de um tanque para o outro, um sistema campesino, o que a contaminação cruzada possível, pois não há um controle da qualidade da água que abastece a piscicultura. A intervenção na produção por técnicas mais avançadas é altamente incipiente nos sistemas avaliados neste estudo.

Estudos relatam a presença da bactéria *Pseudomonas* spp. em ambientes aquáticos (ROCHA et al., 2015; WENSONG et al., 2018). Alguns gêneros são patógenos oportunista como a *Pseudomonas aeruginosa*, capaz de causar doença no indivíduo que apresenta algum fator predisponente, como baixas nas defesas imunológicas (GARCIA-CRUZ et al., 2008). A presença desta bactéria em todas as coletas e em ambas as pisciculturas se torna um fato preocupante, pois a infecção dos peixes por *Pseudomonas* spp. pode causar a mortandade dos peixes e conseqüentemente perdas econômicas significativas (CARVALHO et al., 2015).

Salmonella spp. é uma da bactéria patogênica comumente vincula a surtos de doenças transmitidas por alimentos; tem como seu habitat natural o trato gastrointestinal de muitos animais, incluindo aves, répteis, gado e seres humanos (LIU et al., 2018). A presença da bactéria *Salmonella* spp. nas pisciculturas estudadas podem estar relacionada a contaminação cruzada por animais. Liu et al. (2018) relatam que o transporte da salmonella para as águas superficiais ocorre através de chuvas e escoamentos superficiais, ou até mesmo pelo contato com as fezes de animais contaminados.

A maioria dos estudos de isolamento de *Salmonella* spp. estão relacionados com a água para consumo humano, irrigação de culturas de vegetais ou com alimentos processados de origem animal (ANTAKI et al., 2016; NI, et al., 2018). A fonte de contaminação de pisciculturas por salmonella ainda é pouco explorada, e quando ocorrem são voltados para a carne do pescado, e que relacionam a contaminação da mesma com a qualidade da água e do ambiente onde o peixe vivia (COSTA et al., 2016).

4.3.3 Sanidade da piscicultura

Considerando os resultados obtidos nas análises microbiológicas, podemos relatar que as práticas de manejo utilizadas nas pisciculturas podem estar interferindo na sanidade do ambiente, pois todos os grupos de microrganismos encontrados são classificados como patogênicos, e alguns preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA como controle de sanidade (*E.coli* e *Salmonella* spp.) (ANVISA, 2001).

O descaso com as medidas preventivas na introdução de peixes novos e também pela presença de peixes selvagens parasitados nas pisciculturas são os principais responsáveis pela má sanidade do local. O diagnóstico precoce e o tratamento preciso das infecções bacterianas nas pisciculturas pode ser a chave para o sucesso, uma vez que impede o alastramento de doenças nos peixes (LEIRA et al., 2017).

Conhecer as características físicas, químicas e biológicas da água são de vital importância para a produção, os peixes dependem de água de boa qualidade para realizar todas as suas funções fisiológicas. Com o monitoramento da piscicultura o produtor pode evitar um impacto na criação, garantir a qualidade do pescado e evitar a morbidade e mortalidade elevadas que pode dizimar o plantel ou até mesmo afetar a comercialização do pescado (LEIRA, et al., 2017, MEANTE e COSTA DÓRIA, 2018).

A presença de bactérias patogênicas formadoras da comunidade perifítica chama atenção, pois vários trabalhos divulgam a inserção do perifíton desenvolvido e substratos artificiais como uma fonte alimentar nas pisciculturas (SILVA et al., 2016; DAVID et al., 2018; JHA et al., 2018). A ingestão do perifíton pelos peixes podem ocasionar a contaminação cruzada do pescado e conseqüentemente interferir na sanidade da piscicultura.

A qualidade do pescado deve ser garantida em todas as etapas da cadeia produtiva, desde a criação, abate, limpeza, transporte e comercialização, pois, os peixes e seus derivados podem estar contaminados por bactérias oriundas do ambiente aquático onde vivia ou até mesmo do manuseio ou processamento (DIAS et al., 2016).

O monitoramento da piscicultura e a busca da qualidade do pescado, além de ser uma necessidade sanitária e de saúde pública, é um problema social e de educação básica (DIAS et al., 2016), uma vez que a falta de fiscalização do cumprimento de legislações ou normativas específicas no Brasil, permite que o produtor adote práticas inadequadas ou pouco difundidas de cultivo e interfira na sanidade da piscicultura e conseqüentemente na qualidade do pescado.

4.4. CONCLUSÃO

Foi possível isolar microrganismos da comunidade perifítica aderida ao substrato artificial PET de todos os grupos de bactérias patogênicas delimitadas (*E.coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., e *Salmonella* spp.), e verificar que as práticas de

trabalho (criação de pescado e de outros animais (porco, gado e ovelha) em ambas as pisciculturas podem estar contribuindo para a contaminação microbiológica do ambiente estudado. O uso do PET como substrato artificial, apresentou bons resultados na fixação da comunidade perifítica. Além de ser um material resistente, de baixo custo e fácil manuseio, nos permitiu controlar o tempo de exposição do substrato com a lâmina d'água e se ter a contaminação do ambiente num período de 30 dias, o que o torna adequado para o monitoramento de ambientes aquáticos. A presença dessas bactérias patogênicas no perifíton inviabiliza seu uso como suplemento alimentar para os peixes de cativeiros. O monitoramento contínuo dos tanques deveria ser de interesse dos piscicultores, pois esta ação previne doenças que acometem os peixes, impedindo que fiquem imunodebilitados pelas condições que o ambiente se encontra, causando sua mortandade e conseqüente prejuízos financeiros aos empreendimentos.

4.5. AGRADECIMENTOS

Somos gratos à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul - FUNDECT pelas ações de apoio financeiro da e bolsa de doutorado concedida; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo apoio no desenvolvimento do projeto.

4.6. REFERÊNCIAS

- ANTAKI, E. M.; VELLIDIS, G.; HARRIS, C.; AMINABADI, P.; LEVY, K.; JAY-RUSSELL, M. Low concentration of *Salmonella enterica* and generic *Escherichia coli* in farm ponds and irrigation distribution systems used for mixed produce production in Southern Georgia. *Foodborne pathogens and disease*, v. 13, n. 10, p. 551-558, 2016.
- APHA, American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. Washington, D.C: APHA, AWWA, & WEF, p. 1368, 2005.
- BATTIN, T. J.; SLOAN, W. T.; S. DAIMS, K. H.; HEAD, I. M.; CURTIS, T. P.; EBERL, L.. Microbial landscapes: newpaths to biofilm research. *Nature Reviews Microbiology*, v. 5, p. 76-81, 2007.

- BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001: Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2001.
- CARVALHO, E.; BELÉM-COSTA, A.; PORTO, J. I. R.. Identificação bioquímica de bactérias patogênicas isoladas de peixes ornamentais no estado do Amazonas. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., v. 16, n. 1, p. 170-178, 2015.
- CHRISTOPHER, L.; BROWN, T. Y.; FITZSIMMONS, K., BOLIVAR, R. B.. The Value of Pig Manure as a Source of Nutrients for Semi-Intensive Culture of Nile Tilapia in Ponds (A Review). Agricultural Sciences, v. 5, n. 12, p 2014.
- COSTA, T. D.; COSTA, R. D.; VAZ, A. C. N.; VIDAL, A. M. C.. Qualidade microbiológica de tilápias obtidas de pescueiros no interior do estado de São Paulo, Brasil. Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, Jaboticabal (SP), v. 8, 2016.
- DAVID, L. H. C.; RODRIGUES, R. A.; CAMPOS, D. W. J.; ROMERA, D. M.; GARCIA, F.. Perifiton: uma opção de alimento complementar na aquicultura - Parte I. Revista Aquaculture, 13 ed., p. 17-20, 2018.
- DIAS, E. F.; MAUAD, J. R. C.; SILVA, L. F.; GARCIA, R. G.; SGAVIOL, S.. Entraves e perspectivas da legislação sanitária para o desenvolvimento da cadeia da piscicultura em Dourados, Mato Grosso do Sul. Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, v.7, n.1, p.176-185, 2016.
- GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U.; SILVA, A. N.. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. Quim. Nova, v. 31, n. 7, p. 1800-1806, 2008.
- GONZALEZ-RODRIGUEZ, E.; RODRIGUES, S. V.; MARINHO, M. M.; CARVALHO, W. F.; PINTO, F. N.; PARANHOS, R.. Biomassa fitoplancônica e produção primária. Habitats, v. 5. p. 69-87, 2017.
- IBRAHIM, E. M. E.; EL-LIETHY, M. A.; ABIA, A. L. K.; HEMDAN, B. A.; SHAHEEN, M. N.. Survival of *E. coli* O157: H7, Salmonella Typhimurium, HAdV2 and MNV-1 in river water under dark conditions and varying storage temperatures. Science of the total environment, v. 648, p. 1297-1304, 2019.
- JHA, S.; RAI, S.; SHRESTHA, M.; DIANA, J. S.; MANDAL, R. B.; EGNA, H.. Production of periphyton to enhance yield in polyculture ponds with carps and small indigenous species. Aquaculture Reports, v. 9, p. 74-81, 2018.
- KIM, F. J. P.; SILVA, A. E. M.; SILVA, R. V. S.; KIM, P. C. P.; ACOSTA, A. C.; SILVA, S. M. B. C.; SENA, M. J.; MOTA, R. A.. Detecção de *Aeromonas* spp. e

- do gene de virulência aerolisina em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com a técnica de mPCR. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 38, n. 9, p. 1731-1735, 2018
- LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M.. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, p. 23, 1996.
- LEIRA, M. H.; REGHIM, L. S.; CIACCI, L. S.; CUNHA, L. T.; BOTELHO, H. A.; BRAZ, M. S.; DIAS, N. P.; MELO, C. C. V.. Problemas sanitários das pisciculturas brasileiras. *PUBVET*, v.11, n. 6, p. 538-544, 2017.
- LIU, H.; WHITEHOUSE, C. A.; LI, B.. Presence and Persistence of Salmonella in Water: The Impact on Microbial Quality of Water and Food Safety. *Front Public Health*, v. 6, p. 159, 2018.
- MATHAI, P. P.; DUNN, H. M.; MAGNONE, P.; ZHANG, Q.; ISHII, S.; CHUN, C. L.; SADOWSKY, M. J.. Association between submerged aquatic vegetation and elevated levels of *Escherichia coli* and potential bacterial pathogens in freshwater lakes. *Science of The Total Environment*, v. 657, p. 319-324, 2019.
- MEANTE, R. E. X.; COSTA DÓRIA, C. R.. Caracterização da Cadeia Produtiva da Piscicultura no Estado de Rondônia: Desenvolvimento e Fatores Limitantes. *Revista de Administração e Negócios da Amazônia*, n. 9, v. 4, p. 164-181, 2018.
- MOSCHINI-CARLOS, V.. Importância, estrutura e dinâmica da comunidade perifítica nos ecossistemas aquáticos continentais. *Perspectivas na Limnologia no Brasil*. Gráfica e Editora União, São Luís, p. 1-11, 1999.
- NI, P.; XU, Q.; YIN, Y.; LIU, D.; ZHANG, J.; WU, Q.; TIAN, P.; SHI, X.; WANG, D.. Prevalence and characterization of *Salmonella serovars* isolated from farm products in Shanghai. *Food Control*, v. 85, p. 269-275, 2018.
- PEREIRA, D.; MANSUR, M. C. D.; VOLKMER-RIBEIRO, C.; OLIVEIRA, M. D.; SANTOS, C. P.; BERGONCI, P. E. A.. Colonização de substrato artificial por macroinvertebrados límnicos, no delta do rio Jacuí (RS, Brasil). *Biotemas*, v. 23, n. 1, p. 101-110, 2010.
- POMPÊO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS, V.. Macrófitas aquáticas e perifíton, aspectos ecológicos e metodológicos. Ed. RiMa, p. 134, 2003.
- ROCHA, M. P.; DOURADO, P. L. R.; RODRIGUES, M. S.; RAPOSO JR, J. L.; GRISOLIA, A. B.; OLIVEIRA, K. M. P.. The influence of industrial and agricultural waste on water quality in the Água Boa stream (Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil). *Environmental monitoring and assessment*, v. 187, n. 7, p. 442, 2015.

- ROCHA, M. P.; VAINI, J. O.; AMARAL, B. C.; OLIVEIRA, L. S.; OLIVERA, K. M. P.; GRISOLIA, A. B.. Identification of microbiological contamination and mutagenic potential of surface waters of the municipality of Dourados, MS. *Ciência e Natura*, v. 40, n. 38, p 1-8, 2018.
- SILVA, N., JUNQUEIRA, V.C.A., SILVEIRA, N.F.A., TANIWAKI, M.H., GOMES, R.A.R., OKAZAKI, M.M. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 5ª ed. – São Paulo: Blucher, p. 560, 2017.
- SOUZA, Á. F. L.; MARQUES, D. M.; MONTEIRO, R. M.; QUEIROZ, A. A. F. L.; ANDRADE, D.; WATANABE, E.. Prevenção da formação de biofilmes em marcapassos artificiais: é viável?. *Acta paul. enferm.*, v. 30, n. 6, p. 644-650, 2017.
- TIPPETT, R.. Artificial surfaces as a method of studying populations of benthic microalgae in freshwater. *Br. Phycol. J.*, v. 5, n. 2, p. 187-199, 1970.
- WENSONG, S.; ZHUO, H.; YUYANG, L.; JUAN, H.; JING, H.. Analysis of the contamination status of *Pseudomonas aeruginosa* in packed drinking water in some city. *Journal of Food Safety and Quality*, v. 9, n. 4, p.757-760, 2018.
- WETZEL, R.G. Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators. *Verh. Int. Ver Limnol.*, n. 24, p. 6- 24, 1990.

5. CAPÍTULO III

**IMPACTOS AMBIENTAIS OCASIONADOS POR PISCICULTURAS EM
AMBIENTES AQUÁTICOS**

Impactos ambientais ocasionados por pisciculturas em ambientes aquáticos

Monyque Palagano da Rocha¹, Kelly Mari Pires de Oliveira², Heberth Juliano Vieira¹

¹ Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia – FACET, Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, Rodovia Dourados - Itahum, Km 12, Cidade Universitária. Caixa Postal 533, CEP: 79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil

² Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – FCBA, Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, Rodovia Dourados - Itahum, Km 12, Cidade Universitária. Caixa Postal 533, CEP: 79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil

Resumo

A busca para suprir a fome no mundo vem intensificando a prática da aquicultura, devido ao alto valor energético da carne do pescado. Com o aumento da produção do pescado há também o aumento dos impactos ambientais ocasionados pela piscicultura ao meio ambiente e aos recursos hídricos que recebem seus efluentes. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar as características químicas e a contaminação microbiológica da água utilizada nas pisciculturas por meio de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos para relacionar os possíveis impactos que os efluentes destas podem ocasionar aos corpos d'água que os recebem. Os parâmetros físicos e químicos aferidos pela sonda estavam de acordo com as especificações da Resolução n° 357 de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. A presença de bactérias patogênicas (*E. coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp.) na água dos tanques indicam uma contaminação bacteriológica que pode interferir na sanidade da piscicultura e dos córregos que recebem seus efluentes. Todos os valores de fósforo total estavam acima do permitido pelo CONAMA. A Análise Discriminante distinguiu os pontos amostrais (entrada, meio e saída) das diferentes pisciculturas. O dendrograma obtido pela HCA permitiu observar a formação de dois principais agrupamentos, um contendo as amostras dos tanques meio e saída, e outro ramo contendo as amostras do tanque entrada. Conclui-se que a escassez de normatizações e legislações direcionada a pisciculturas brasileiras, e a falta de fiscalização, permitem que o produtor adote práticas inadequadas de cultivo, e não realize o monitoramento das pisciculturas e o tratamento de seus efluentes, acarretando assim, sérios problemas na sanidade do ambiente e posteriormente no curso d'água que os recebem.

Palavras Chave: Aquicultura; Sanidade ambiental; Monitoramento ambiental; Análise Discriminante.

Abstract

Brazil is a country rich in water resources and has an extremely favorable climate for the development of fish farms. The search for hunger in the world has been intensifying aquaculture, due to the high energy value of fish meat. With the increase in fish production there is also an increase in the environmental impacts caused by fish farming. The objective of this work was to evaluate the chemical characteristics and microbiological contamination of the water used in fish farms by means of physical and chemical parameters, microbiological analyzes and determination of Total Phosphate and Sulphate, and to relate the possible impacts that the effluents of these can cause to the bodies of water that receive them. All physical and chemical parameters were in accordance with the specifications of Resolution n° 357 of 2005 of the Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. The presence of pathogenic bacteria (*E. coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp.) In the water of the tanks indicates a bacteriological contamination that can interfere in the sanity of the fish culture and of the streams that receive its effluents. All total phosphorus values were above that allowed by CONAMA. Discriminant Analysis distinguished the sampling points (input, medium and output) of different fish farms. The dendrogram obtained by the HCA allowed to observe the formation of two main clusters, one containing the samples of the middle and exit tanks, and another branch containing the samples of the entrance tank. It is concluded that the scarcity of norms and legislation directed to Brazilian fish farms, and the lack of inspection, allow the producer to adopt inadequate cultivation practices, and does not carry out the monitoring of fish farms and the treatment of their effluents, thus causing serious problems in the sanity of the environment and later in the water course that receives them.

Key Word: Aquaculture; Environmental health; Environmental monitoring; Analysis distinguished.

5.1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país rico em recursos hídricos, possui clima extremamente favorável para o plantio de grãos (soja, milho, trigo, entre outros) que geram matéria prima destinada a fabricação de rações de animais (BOZANO, 2002), fatos estes que favorecem a crescente produção e demanda por pescado no mercado interno brasileiro (ONO e KUBITZA, 2002).

De acordo com a FAO (2016), para o ano de 2050, estima-se que a população mundial esteja em torno de 9 bilhões de pessoas e, para alimentar este crescente número

de indivíduos, a produção anual de carnes deverá aumentar em mais de 200 milhões de toneladas, até alcançar os 470.

O avanço do consumo da carne de pescado nos últimos anos se deu devido ao seu alto valor nutricional (micronutrientes (vitamina A, D e B), minerais (magnésio, fósforo, selênio, cálcio, ferro e zinco), ácidos graxos essenciais e aminoácidos essenciais (SCHERR et al., 2014)).

No ano de 2017, o Brasil teve uma produção anual de 559.320,160 toneladas de pescados provenientes da aquicultura, onde a região Centro Oeste contribuiu com 72.129,828 toneladas, o estado do Mato Grosso do Sul com 18.087,117 toneladas e o município de Dourados com 49.037 toneladas (IBGE, 2018). Com o aumento da produção do pescado há também o aumento dos impactos ambientais ocasionados pela piscicultura, Cardoso et al. (2016) dizem que a utilização de rações e o consequente manejo nutricional dos peixes definem o grau do impacto ambiental causado pela piscicultura, pois as sobras alimentares e as fezes dos animais são os principais poluentes em efluentes de pisciculturas intensivas.

Vários estudos vêm constatando o impacto que as atividades aquícolas causam aos recursos hídricos que recebem seus efluentes entre eles a alteração nos parâmetros físicos e químicos (TORRES et al., 2017); aumento do fluxo de partículas e nutrientes dissolvidos no ambiente (CANALE et al., 2016); contaminação por compostos químicos (antibióticos, antiparasitários, anestésicos e desinfetantes) (BURRIDGE et al., 2010); contaminação bacteriana (SOBRINHO et al., 2017).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar as características químicas e a contaminação microbiológica da água utilizada nas pisciculturas por meio de parâmetros físicos e químicos, análises microbiológicas e determinação de fósforo total e sulfato, e relacionar os possíveis impactos que os efluentes destas podem ocasionar aos corpos d'água que os recebem.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Locais de estudo

Foram avaliadas duas pisciculturas na região da Grande Dourados em Mato Grosso do Sul, com a repetição de 3 coletas em cada local. A Piscicultura 1 – (Pisc. 1), trabalha com o cultivo do peixe Lambari (*Astyanax lacustris*), não usam fertilização,

nem sistema de aeradores e seus tanques de cultivo são somente escavados sem proteção de fundo, a ração comercial a base de milho, soja e carne é utilizada para alimentação dos peixes. Já a Piscicultura 2 – (Pisc. 2) cultivam os peixes Tambaqui (*Colossoma macropomum*), Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Dourado (*Salminus brasiliensis*) e Patinga (mistura do Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com a Pirapitinga (*Piaractus brachipomus*)), não possuem fertilização, aeradores e proteção de fundo nos tanques de cultivo, a ração comercial é utilizada para alimentação dos peixes.

Em ambas as pisciculturas foram selecionados 3 pontos amostrais, sendo: Ponto 1 (P1) – Canal da nascente que alimenta a piscicultura, entrada; Ponto 2 (P2) – Tanque de cultivo na piscicultura, meio; Ponto 3 (P3) – Canal que percorre os efluentes da piscicultura para o córrego, saída. Foi possível observar que ambas as pisciculturas estão inseridas à micro bacia do Rio Brilhante (Figura 1).

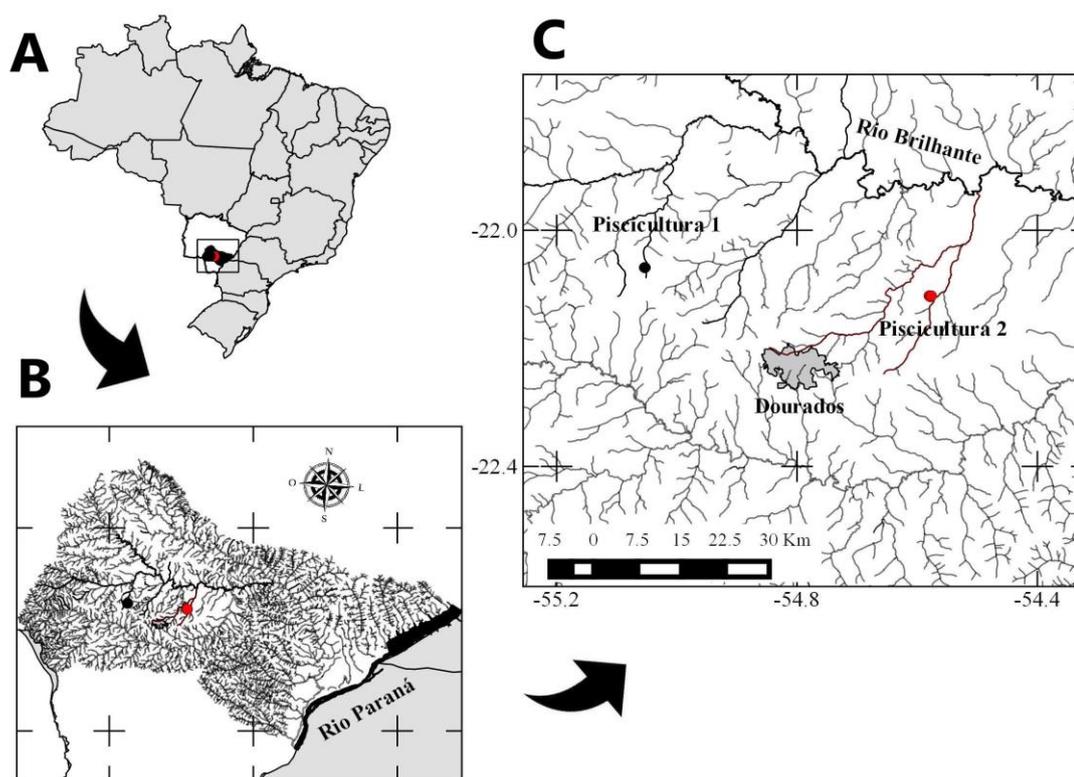


Figura 1: Delimitação das pisciculturas na micro bacia hidrográfica do Rio Brilhante.

Legenda: A – Mapa do Brasil delimitando o estado de Mato Grosso do Sul e a bacia hidrográfica do Rio Ivinhema, B – Bacia hidrográfica do Rio Ivinhema destacando a micro bacia do Rio Brilhante, C – Pisciculturas inseridas na micro bacia do Rio Brilhante.

Autor: FERREIRA, F. S., 2019.

5.2.2 Procedimento de coleta

As amostras de água para as análises microbiológicas foram coletadas em frascos de vidro de 500 mL estéreis, submergindo-os a 20 cm de profundidade e transportadas em caixa térmica sob-refrigeração, obedecendo ao tempo máximo estabelecido entre a coleta da água e o início do exame microbiológico de 8 horas (APHA, 2005).

Para as análises de determinação de fósforo total e sulfato, as amostras de água foram coletadas em frascos âmbar com capacidade de 1 litro e refrigeradas até o momento das análises (APHA, 1992).

5.2.3 Análises Físicas e Químicas

As condições físicas e químicas da água foram mensuradas pela sonda multiparâmetro YSI Professional Plus, OD (% e mg/L) – Oxigênio dissolvido em porcentagem e em miligramas por litro, ORP (mV) – Potencial de oxirredução em milivolts, pH – Potencial hidrogeniônico, Temp (°C) – Temperatura em graus Celsius, SPC ($\mu\text{S}/\text{cm}$) – Condutância específica em microSiemens por centímetro, STD (mg/L) – Sólidos Totais Dissolvidos em miligramas por litro.

5.2.4 Análises Microbiológicas

5.2.4.1 Coliformes Totais e *E. coli*

Utilizou-se a técnica de presença e ausência no substrato cromogênico e fluorogênico do Colilert® (IDEXX Laboratories, Inc 2012) para determinar os coliformes totais e *E.coli*. 100 mL da amostra da água foram acondicionados em frascos próprios para a análise e adicionado o substrato, após incubou os a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Para critérios de interpretação do Colilert®, a viragem da amostra para a cor amarela indicou a presença de coliformes totais e a *E. coli* foi confirmada sob fluorescência (ultravioleta de 360nm).

Para o isolamento da *E.coli*, foi adicionado 1 mL do líquido da análise do Colilert em 9 mL do caldo seletivo EC Broth (HIMEDIA) e encubado a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Após esse período, foi estriado em duplicata, a amostra por esgotamento em agar EMB (HIMEDIA). As colônias que apresentaram o brilho verde metálico foram presuntivamente consideradas como *E.coli* segundo as recomendações do fabricante.

5.2.4.2 Pesquisas de *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas* spp.

Para o enriquecimento seletivo, 1 mL da amostra de água foram adicionados em tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada pamponada (HIMEDIA) e incubados à temperatura de 30°C por 24 horas. Após o período de incubação, alíquotas das culturas, foram semeadas com auxílio da alça bacteriológica na superfície do agar *Aeromonas* Medium Base (Ryan) (OXOID), em duplicata e incubadas à temperatura de 32°C, por 24 horas conforme especificações do fabricante (APHA, 2005; SILVA, et al., 2017). As UFC que apresentaram um ponto preto central e translúcidas são descritas como *Aeromonas* spp., e as UFC que apresentaram textura gosmenta e coloração verde como *Pseudomonas* spp conforme características indicadas pelo fabricante.

5.2.4.3 Pesquisa de *Salmonella* spp.

Para pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizado o pré-enriquecimento da amostra em Água Peptonada Tamponada (HIMEDIA), e o enriquecimento seletivo nos Caldos Selenito Cistina (SC) (ISO FAR) e Rappaport Vassiliadis (RV) (ISO FAR). Hektoen Enteric Agar (ISO FAR) foi utilizado para o isolamento do microrganismo (APHA, 2005; SILVA, et al., 2017). Seguindo as especificações do fabricante, as colônias com o halo transparente e ponto negro central foram selecionadas como *Salmonella* spp. e triadas por métodos bioquímicos MIO (Motilidade, Indol e Ornitina), TSI (Agar Tríplice Açúcar Ferro), e Ureia para a confirmação da espécie.

5.2.5 Determinações de Fósforo Total e Sulfato

Utilizou-se as técnicas preconizadas pelo “Standard Methods: For The Examination of Water and Wastewater” (APHA, 1992), para a construção da curva analítica do fósforo total e do sulfato, preparo dos reagentes e condicionamento das amostras. As leituras foram feitas no Espectrofotômetro Cary 50, no comprimento de onda de 950 nm para a detecção do fósforo total e 420 nm para a detecção do Sulfato. Utilizou-se o software “Origin Pro 8.5” para obter-se a curva analítica do fósforo total, sulfato e tratamento dos dados obtidos em ambas as análises.

5.2.6 Análises Estatísticas

Para a classificação das diferentes amostras de água das pisciculturas, utilizou-se da técnica Análise discriminante (DA) (MCLACHLAN, 2004) e Análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) (BEEBE, et al., 1998). Os cálculos foram realizados utilizando-se o programa Paleontological Statistics, versão 3.2. Os pontos de coleta foram renomeados da seguinte forma: P1 – Entrada, P2 – Meio e P3 – Saída.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Análises Físicas e químicas

As condições físicas, químicas da água e as especificações da Resolução nº 357 de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA podem ser observadas na Tabela 1.

De acordo com o CONAMA 357/2005, as águas classificadas como água de classe 2, podem ser destinadas à aquicultura e à atividade de pesca. Comparando os resultados obtidos com a especificação do CONAMA, pode-se notar que todos os valores estão dentro dos valores estabelecidos pela resolução.

Todos os valores observados no potencial de oxirredução se apresentaram negativos. Segundo Jardim (2014) valores positivos de potencial redox indicam condições oxidantes, enquanto que valores negativos indicam disponibilidade de elétrons, ou condições redutoras, portanto ambas as pisciculturas apresentam condições redutoras.

Os resultados encontrados no presente estudo corroboram aos reportados por Lehmann e Vinatea (2008) que também apresentaram valores negativos; eles justificaram que esses valores estão diretamente relacionados a concentração de íons disponíveis nos viveiros. Seo e Boyd (2001) relatam que o processo de secagem e revolvimento do fundo do viveiro, no intervalo de dois períodos de criação são benéficos para diminuir a concentração de matéria orgânica e melhorar as condições de aerobiose do solo, além de diminuir a razão de liberação do fósforo presente no fósforo total de ferro, que leva a um potencial redox mais baixo.

Segundo Pereira et al. (2012) e Rocha et al. (2015), os valores de condutividade elétrica e de sólidos totais dissolvidos estão sempre relacionados, pois a condutividade

da água está relacionada à presença de partículas carregadas eletricamente, e quanto mais partículas (sólidos totais dissolvidos) maior a condutividade. Foi possível notar este aspecto nos resultados obtidos, em que um maior valor aferido para ambos foi observado na 1° coleta da Pisc.1 nos pontos P2 e P3 (SPC (126 uS/cm) e STD (81,9 mg/L)) e o menor valor na 3° coleta da Pisc.1 no pontos P1 (SPC (43 uS/cm) e STD (27,95 mg/L)).

Tabela 1 - Dados físicos e químicos dos pontos amostrais nas pisciculturas.

Locais/ Coletas	Pontos	Elementos mensurados						
		OD (% e mg/L)	ORP (mV)	pH	Temp (°C)	SPC (uS/cm)	STD (mg/L)	
Piscicultura 1	1°	1	73,65 / 6,66	-28,63	6,92	20,2	45,0	29,25
		2	73,4 / 6,46	-7,35	6,55	21,7	126,0	81,9
		3	73,8 / 6,5	-4,2	6,71	21,35	126,0	81,9
	2°	1	37,25 / 3,32	-35,7	6,92	21,0	44,0	28,6
		2	85,45 / 7,39	-33,0	7,47	22,6	80,0	52,0
		3	52,0 / 4,54	-27,4	7,53	22,1	79,0	51,52
	3°	1	19,05 / 1,72	-11,9	7,05	20,2	43,0	27,95
		2	42,7 / 3,75	-11,5	7,11	21,7	60,0	39,0
		3	32,75 / 2,89	-7,8	7,22	21,3	64,0	41,6
Piscicultura 2	1°	1	78,15 / 6,83	-9,4	6,41	22,0	61,0	39,80
		2	90,0 / 7,74	-45,95	6,54	22,8	55,0	35,75
		3	80,4 / 6,88	-17,7	6,12	23,1	57,0	37,05
	2°	1	48,0 / 4,16	-17,85	8,23	22,5	64,0	41,6
		2	83,3 / 6,96	-41,0	8,56	24,4	54,0	35,1
		3	59,5 / 4,97	-25,35	8,34	24,4	51,0	33,15
	3°	1	63,55 / 5,42	-18,1	6,66	23,3	63,0	40,95
		2	71,95 / 5,94	-25,1	6,66	25,0	58,0	37,7
		3	67,65 / 5,60	-18,05	6,72	24,9	52,0	33,8
CONAMA 357/2005		Não inferior a 5,0 mg/L	*	6,0 a 9,0	*	*	Valor máximo 500 mg/L	

Nota: OD (% e mg/L) – Oxigênio dissolvido em porcentagem e em miligramas por litro, ORP (mV) – Potencial de oxirredução em milivolts, pH – Potencial hidrogeniônico, Temp (°C) – Temperatura em graus Celsius, SPC (uS/cm) – Condutância específica em microSiemens por centímetro, STD (mg/L) – Sólidos Totais Dissolvidos em miligramas por litro. Todos os desvios padrões relativos estavam abaixo de 5% do valor médio do parâmetro.

(*) Não especificado pela Resolução n° 357 de 2005 do CONAMA.

5.3.3 Análises Microbiológicas

A tabela 2 apresenta os resultados das análises microbiológicas. Todos os grupos de bactérias estudados são de importância para a sanidade da piscicultura devido ao potencial patogênico que estas podem apresentar.

Tabela 2 – Resultados referente ao isolamento de microrganismos.

Locais/ Coletas	Pontos	Microrganismos Isolados				
		<i>E.coli</i>	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	
Piscicultura 1	1	x	x	X	-	
	1°	2	x	x	X	-
		3	x	x	X	-
		1	x	-	X	-
	2°	2	x	x	X	x
		3	x	x	X	x
		1	x	x	X	x
	3°	2	x	x	X	x
		3	x	x	X	x
1		x	x	X	x	
Piscicultura 2	1	x	x	X	x	
	1°	2	x	x	X	-
		3	x	x	X	x
		1	x	x	X	x
	2°	2	x	-	X	-
		3	x	x	X	x
		1	x	x	X	x
	3°	2	x	x	X	-
		3	x	x	X	-
		1	x	x	X	-

Nota: (x) – Presença, (-) – Ausência.

E.coli é comumente utilizada como um indicador de contaminação fecal, uma vez que seu habitat primário é o trato intestinal de animais homeotérmicos (FRANCO e LANDGRAF, 2005). Estudos em ambientes aquáticos (ROCHA et al., 2018; IBRAHIM et al., 2019; MATHAI et al., 2019), relatam sobre a contaminação cruzada que o ambiente recebe por dejetos urbanos e de criadouros de animais.

No caso das pisciculturas estudadas, a presença da criação de porcos na Pisc.1 e gado e ovelhas na Pisc.2, podem ter contribuído para o isolamento da *E.coli* em todos os pontos e coletas realizadas, com sua presença verificada até mesmo na nascente (P1) em ambas as pisciculturas.

Pseudomonas spp. é considerada como um microrganismo versátil e oportunista, parte integrante dos microrganismos naturais da água. Sua presença na água destinada a dessedentação humana e irrigação de hortaliças é comumente divulgada em estudos (ALLYDICE-FRANCIS e BROWN, 2012; SILVA et al., 2018).

Garcia-Cruz et al. (2008) e Carvalho et al. (2015) descrevem a importância do monitoramento de *Pseudomonas* spp. em pisciculturas, principalmente as da espécie *Pseudomonas aeruginosa*, causadoras de doenças em peixes que apresentam algum fator predisponente, como baixas nas defesas imunológicas.

A presença de *Pseudomonas* spp. em todos os pontos e coletas realizadas na Pisc.1 e Pisc.2, torna-se preocupante, pois esta altera as condições de sanidade e qualidade do ambiente, deixando os peixes imunocomprometidos e susceptíveis ao aparecimento de doenças.

Dentre os grupos de bactérias estudados no monitoramento da sanidade em pisciculturas, *Aeromonas* spp. é considerada como a principal causadora de doenças em peixes, pois age diretamente na derme dos peixes ocasionando lesões superficiais ou profundas, que podem progredir para úlceras e quadros típicos de septicemia (LEIRA et al., 2017; KIM et al., 2018).

Foi possível observar a presença da *Aeromonas* spp. em quase todos os pontos das coletas realizadas, com exceção do P1 da segunda coleta da Pisc.1 e do P2 da segunda coleta da Pisc.2. Igbinsosa et al. (2012) e Silva et al. (2018) relatam que *Aeromonas* spp. é habitualmente encontrada no ambiente terrestre e aquático e que a contaminação de animais por ela pode agravar um surto de saúde pública, devido à sua resistência aos antibióticos e a vários fatores de virulência associados a infecções e outras patologias humanas, como gastroenterites, desordens de tecidos moles, infecções musculares e septicemia.

A presença da bactéria *Salmonella* spp. nas pisciculturas estudadas podem estar relacionada a contaminação cruzada por animais. Liu et al. (2018) relatam que o transporte da salmonella para as águas superficiais ocorre através de chuvas e escoamentos superficiais, ou até mesmo pelo contato com as fezes de animais contaminados.

A maioria dos estudos de isolamento de *Salmonella* spp. estão relacionados com a água para consumo humano, irrigação de hortaliças e vegetais ou com alimentos processados de origem animal (ANTAKI, et al., 2016; NI, et al., 2018). A contaminação de pisciculturas por salmonella ainda é pouco conhecida, e quando ocorrem estão associados com a carne do pescado, contaminados pela qualidade da água e do ambiente onde o peixe vivia (COSTA et al., 2016).

5.3.4 Determinação de Fósforo Total

Os resultados referentes a determinação de fósforo total estão apresentados na Tabela 3. Conforme a resolução do CONAMA 357/2005, os valores de fósforo total não devem exceder o limite máximo de até 0,050 mg/L.

Tabela 3 – Resultados referentes à determinação de Fósforo Total.

Locais/ Coletas	Pontos	[] Fósforo Total mg/L	Desvio Médio	
Piscicultura 1	1	< LQ	-	
	1°	2	0,21	0,01
		3	0,23	0,01
		1	0,10	0,01
	2°	2	0,19	0,01
		3	0,29	0,01
		1	0,27	0,04
	3°	2	0,37	0,02
		3	0,40	0,07
1		0,17	0,04	
Piscicultura 2	1	0,17	0,04	
	1°	2	0,25	0,03
		3	0,29	0,07
		1	0,12	0,03
	2°	2	0,16	0,01
		3	0,21	0,02
		1	0,08	0,01
	3°	2	0,18	0,01
		3	0,11	0,01

Nota: LD = 0,03 mg/L; LQ: 0,10 mg/L.

Pode-se observar que todos os valores encontrados estavam acima dos valores permitidos pela resolução CONAMA. As maiores concentrações de fósforo total foram observadas nos P3 (efluente da piscicultura) em quase todas as coletas, com exceção

somente da 3^o coleta da Pisc.2 ($p < 0,05$). Os valores observados por Torres et al. (2017) e Hurtado et al. (2018) coincidem com o presente estudo que apresentaram valores acima do permitido pela legislação, e as maiores concentrações foram observadas nos pontos de descarte.

O fósforo total é denominado como um dos principais micronutrientes para os processos biológicos, essencial para o desenvolvimento das células animais e vegetais (HURTADO et al., 2018). O excesso deste nutriente proporciona o desenvolvimento desordenado e *bloom* de algas, causado pela eutrofização do meio aquático (LIZAMA et al., 2007).

Os valores de concentração de fósforo encontrados nas amostras indicam alto índice de fertilização dos viveiros, o que é esperado devido ao “input” promovido pelo fornecimento de matéria orgânica de fontes externas (esterco, ração, material dissolvido ou particulado na água de abastecimento dos viveiros); outro fator que podemos relatar é o esvaziamento dos tanques ineficiente, que gera como consequência o acúmulo de nutrientes e o aumento no processo de decomposição no fundo do tanque (LIZAMA et al., 2007).

5.3.5 Determinação de Sulfato

A Tabela 4, apresenta os resultados referentes a determinação de sulfato. Segundo a resolução do CONAMA 357/2005, o valor máximo de sulfato permitido é de 250 mg/L.

Todos os valores de sulfato obtidos estão dentro do parâmetro estabelecido pela resolução do CONAMA. O P1 da primeira e segunda coleta na Pisc.2 apresentou valores abaixo do limite de quantificação. Torres et al., (2017) encontrou valores semelhantes aos nossos, e justificou que a avaliação de sulfato pode auxiliar no diagnóstico de contaminações por praguicidas e/ou compostos químicos que o contenha em sua formulação.

O sulfato (ânion SO_4^{-2}) é um dos mais abundantes íons na natureza, a dissolução de solos e rochas permite dissolve-los nas águas subterrâneas, como o gesso (CaSO_4) e o sulfato de magnésio (MgSO_4) e pela oxidação de sulfeto. Mas nas águas superficiais, sua presença está diretamente relacionada com a descargas de esgotos domésticos (por

degradação de proteínas), efluentes industriais e influência de agroquímicos (TORRES et al., 2017).

Tabela 4 – Resultados referentes à determinação de Sulfato.

Coletas/ Locais	Pontos	[] Sulfato mg/L	Desvio Médio	
Piscicultura 1	1	<LQ	-	
	1°	2	8,9	4,5
		3	3,3	0,1
		1	2,5	0,0
	2°	2	2,5	0,4
		3	4,6	1,4
		1	8,5	0,4
	3°	2	10,7	0,3
		3	9,1	1,0
1		<LD	-	
Piscicultura 2	1	<LD	-	
	1°	2	15,5	0,1
		3	7,8	0,1
		1	<LD	-
	2°	2	12,6	0,7
		3	11,0	0,6
		1	7,5	0,3
	3°	2	10,4	0,7
		3	11,1	0,3

Nota: LD = 0,6 mg/L; LQ = 1,9 mg/L; (-) não determinado.

5.3.6 Análises Estatística

5.3.6.1 Análise discriminante (AD)

Os parâmetros físicos e químicos obtidos neste estudo foram avaliados utilizando a Análise discriminante, com o objetivo de avaliar a possibilidade de caracterização dos diferentes pontos de coleta. A Figura 2 distinguiu os pontos amostrais (entrada, meio e saída) das duas pisciculturas com bases nas funções discriminantes. A função 1 diferenciou as classes entrada e meio, do ponto saída. Já a função discriminante 2, não contribui adequadamente para a classificação dos grupos estudados. A função 2 reforça a discriminação dos pontos meio e entrada, mas não possui poder discriminantes para o ponto saída. A avaliação do ajuste geral do modelo foi realizada de acordo com o grau de precisão preditiva da função discriminante. Isso é

feito por meio da razão de sucesso, que corresponde ao percentual de amostras corretamente classificadas (HAIR et al., 2009).

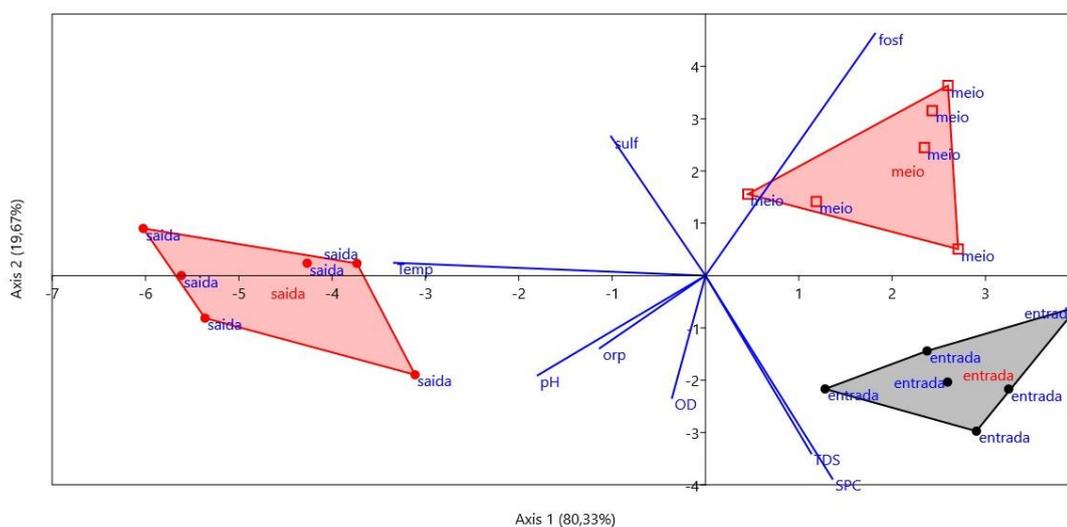


Figura 2 - Mapa territorial bidimensional da análise discriminante dos pontos de amostragem das duas pisciculturas avaliadas

Os “loadings” dos parâmetros empregados são apresentados na Tabela 5. Pode-se verificar que o teor de fósforo total e sulfato contribuíram de maneira significativa para a classificação dos pontos entrada e meio do ponto saída ao contrário dos parâmetros OD, ORP e pH que apresentaram valores menores, contribuindo menos para esta classificação.

Tabela 5 - Loadings dos parâmetros físico e químicos utilizados na avaliação das pisciculturas.

	Axis 1	Axis 2
OD	-0,024	-0,160
ORP	-0,077	-0,095
pH	-0,12	-0,130
TEMP	-0,229	0,0169
SPC	0,093	-0,266
STD	0,077	-0,233
FOSF	0,124	0,317
SULF	-0,069	0,182

Nota: OD (% e mg/L) – Oxigênio dissolvido em porcentagem e em miligramas por litro, ORP (mV) – Potencial de oxirredução em milivolts, pH – Potencial hidrogeniônico, Temp (°C) – Temperatura em graus Celsius, SPC (mS/cm) – Condutância específica em miliSiemens por centímetro, STD (mg/L) – Sólidos Totais Dissolvidos em miligramas por litro, FOSF (mg/L) – Fósforo Total em miligramas por litro e SULF (mg/L) – Sulfato em miligramas por litro

A validação externa é alcançada por meio da matriz de confusão das amostras de estimação (Tabela 6). Nesta tabela verifica-se se o número total de amostras coletadas em cada ponto (6 amostras) foram classificadas adequadamente de acordo com o modelo obtido. Verificou-se que o maior percentual de amostras mal classificadas corresponde aos pontos de amostragem meio, com 50% das amostras incorretamente classificadas. As outras amostras obtiveram uma classificação correta de 83,3%, o que nos indica que o modelo foi capaz de reconhecer quase todas as amostras coletadas na nascente como o ponto de entrada e quase todas as amostras coletadas no efluente como saída.

Tabela 6- Matriz de confusão para as amostras de estimação coletadas nas duas pisciculturas.

	Entrada	Meio	Saída	Total	% Correto
Entrada	5	1	0	6	83,3
Meio	2	3	1	6	50,0
Saída	1	0	5	6	83,3
Total	8	4	6	18	72,2

Pode-se constatar, que o emprego da análise discriminante (AD) contribuiu para a classificação dos pontos de coletas, e que a utilização dos parâmetros físicos e químicos da água para esta análise foram eficientes. A alteração desses parâmetros foi notória nesse estudo, e se elenca devido a prática da atividade piscícola, resultando em problemas adjacentes, devido ao destarte dos efluentes das pisciculturas em outros recursos hídricos, como no caso destas pisciculturas, o Rio Brilhante.

5.3.6.2 Análise de agrupamentos hierárquicos (HCA)

A análise de agrupamento hierárquico (HCA, do inglês hierarchical cluster analysis) é um processo hierárquico no qual em cada passo a matriz de dados é diminuída em uma dimensão, pela reunião de pares semelhantes, até a reunião de todos os pontos em um único grupo. O objetivo da HCA é exibir os dados em um espaço bidimensional de maneira a enfatizar os seus agrupamentos e padrões naturais. A distância entre os pontos (amostras ou variáveis) reflete a similaridade de suas propriedades, sendo útil para determinar a semelhança entre amostras. O método relaciona as amostras de forma que as mais semelhantes são agrupadas entre si. Os

resultados são apresentados na forma de um dendrograma, na qual agrupa amostras ou variáveis em função da similaridade. Neste diagrama, a escala varia de zero (amostras sem similaridades) a um (amostras similares).

No trabalho proposto, empregamos os parâmetros físicos e químicos avaliados nas amostragens bem como a presença ou ausência dos microrganismos *E. coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp. e *Salmonella* spp. para obtenção do dendrograma e classificação das amostras de águas provenientes dos tanques das duas pisciculturas avaliadas.

As tendências observadas através da análise dos componentes principais (PCA) foram confirmadas através do dendrograma obtido pela HCA (Figura 3), ou seja, é possível observar a formação de dois principais agrupamentos, um contendo as amostras dos tanques meio e saída, e outro ramo do dendrograma contendo as amostras do tanque entrada.

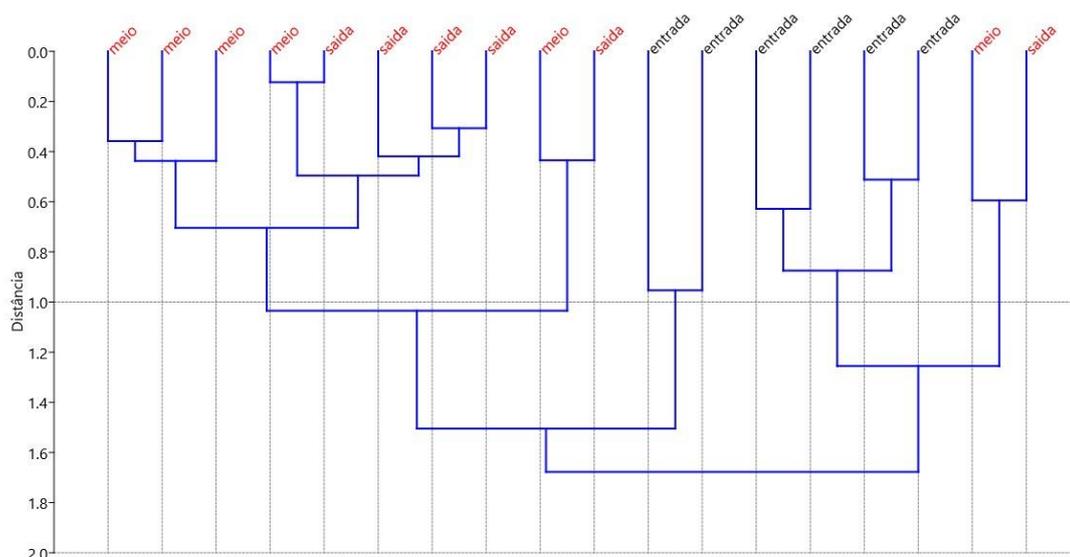


Figura 3 - Análise hierárquica das amostras de águas de pisciculturas amostradas nos tanques entrada, meio e saída. Para obtenção do dendrograma do HCA foram utilizadas a distância euclidiana e o método UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages).

5.4. CONCLUSÃO

Os valores reduzidos de ORP juntamente com os valores baixos de condutividade elétrica indicaram que os tanques apresentam acentuada produção

primária. As práticas de trabalho (criação de pescado e de outros animais (porco, gado e ovelha) em ambas as pisciculturas podem estar contribuindo para a contaminação microbiológica (*E.coli*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp.) dos tanques de cultivo, interferindo diretamente na sanidade da piscicultura e consequentemente nos córregos que recebem seus efluentes. O alto teor de fósforo total na água pode favorecer o crescimento da produção primária nos tanques, e também ocasionar um desequilíbrio nos córregos que recebem os efluentes das pisciculturas. A Análise Discriminante foi eficiente para distinguir os pontos amostrais (entrada, meio e saída) das diferentes pisciculturas, e o dendrograma obtido pela HCA permitiu observar a formação de agrupamentos distintos, ambas as técnicas podem ser indicadas para agrupar e ilustrar melhor os resultados obtidos no monitoramento de ambientes aquáticos. A escassez de normatizações e legislações brasileiras direcionadas ao tratamento de efluentes de pisciculturas e a falta de conhecimento científico aplicados as boas práticas de manejo, permitem o despejo de efluentes diretamente no curso d'água sem tratamento. A prática de monitoramento contínuo dos tanques deveria ser de interesse dos piscicultores, pois esta previne que doenças se alastrem e que os peixes fiquem imunodebilitados pelas condições que o ambiente se encontra, causando a mortandade e consequentemente prejuízos financeiros.

5.5. AGRADECIMENTOS

Somos gratos à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul - FUNDECT pelas ações de apoio financeiro da e bolsa de doutorado concedida; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo apoio no desenvolvimento do projeto.

5.6. REFERÊNCIAS

ALLYDICE-FRANCIS, K.; BROWN, P. D.. Diversity of antimicrobial resistance and virulence determinants in *Pseudomonas aeruginosa* associated with fresh vegetables. *International journal of microbiology*, v. 2012, p. 7, 2012.

ANTAKI, E. M.; VELLIDIS, G.; HARRIS, C.; AMINABADI, P.; LEVY, K.; JAY-RUSSELL, M.. Low concentration of *Salmonella enterica* and generic

Escherichia coli in farm ponds and irrigation distribution systems used for mixed produce production in Southern Georgia. Foodborne pathogens and disease, v. 13, n. 10, p. 551-558, 2016.

APHA, American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st ed. Washington, D.C: APHA, AWWA, & WEF, p. 1368, 2005.

APHA, American Public Health Association. STANDARD METHODS: FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 18th ed. Washington, D.C: APHA, AWWA, & WEF, p. 41-42, 1992.

BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B.. Chemometrics: a practical guide. Wiley-Interscience, v. 4, p. 348, 1998.

BOZANO, G.L.N. Viabilidade Técnica da Criação de peixes em tanquesredes. In: Simpósio Brasileiro de Aquicultura, 12, 2002, Goiânia. Anais... Goiânia: ABRAq. p. 107-111, 2002.

BURRIDGE, L.; WEIS, J.S.; CABELLO, F.; PIZARRO, J.; BOSTICK, K. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. Aquaculture, v. 306, p.7-23, 2010.

CANALE, R. P.; WHELAN, G.; SWITZER, A.; EISCH, E. A bioenergetic approach to manage production and control phosphorus discharges from a salmonid hatchery. Aquaculture, v.451, p.137-146, 2016.

CARDOSO, A. S.; EL-DEIR, S. G.; CUNHA, M. C. C.. Bases da sustentabilidade para atividade de piscicultura no semiárido de Pernambuco. INTERAÇÕES, v. 17, n. 4, p. 645-653, 2016.

CARVALHO, E.; BELÉM-COSTA, A.; PORTO, J. I. R.. Identificação bioquímica de bactérias patogênicas isoladas de peixes ornamentais no estado do Amazonas. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., v. 16, n. 1, p. 170-178, 2015.

CONAMA – Conselho Nacional Do Meio Ambiente. Resolução nº357, de 17 de março de 2005, dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, p. 58-63, 2005.

COSTA, T. D.; COSTA, R. D.; VAZ, A. C. N.; VIDAL, A. M. C.. Qualidade microbiológica de tilápias obtidas de pesqueiros no interior do estado de São Paulo, Brasil. Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, Jaboticabal (SP), v. 8, 2016.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture: Contributing to Food Security and Nutrition for All. Roma. p.204, 2016.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.. Microbiologia dos Alimentos. Editora: Atheneu, p. 196, 2005.

GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U.; SILVA, A. N.. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. Quim. Nova, v. 31, n. 7, p. 1800-1806, 2008.

HAIR JUNIOR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.. Análise Multivariada de Dados. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, p. 688, 2009.

HURTADO, F. B.; FIGUEIREDO, F. M.; COSTA, R.; BOMFIM, S.; QUEIROZ, C. B.; PONTES, W. P.. PARÂMETROS LIMNOLÓGICOS EM VIVEIROS DE PISCICULTURA SEMI-INTENSIVA DE TAMBQUI COM ABASTECIMENTO EM DISPOSIÇÃO SEQUENCIAL. Rev. Agro. Amb., v. 11, n. 1, p. 9-30, 2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Tabela 3940: Produção da aquicultura, por tipo de produto, 2018. <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado>>. Acessado em: 10 de fevereiro de 2019.

IBRAHIM, E. M. E.; EL-LIETHY, M. A.; ABIA, A. L. K.; HEMDAN, B. A.; SHAHEEN, M. N.. Survival of *E. coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium*, HAdV2 and MNV-1 in river water under dark conditions and varying storage temperatures. Science of the total environment, v. 648, p. 1297-1304, 2019.

IGBINOSA, I. H.; IGUMBOR, E. U.; AGHDASI, F.; TOM, M.; ANTHONY, I. O.. Emerging aeromonas species infections and their significance in public health. The Scientific World Journal, v. 2012, p. 13, 2012.

IMANI, M.; GHASSEMIAN, H.. Feature Space Discriminant Analysis for hyperspectral data feature reduction. Journal Photogrammetry And Remote Sensing, Amsterdam, v. 102, p.1-13, 2015.

JARDIM, W.. Medição e interpretação de valores do Potencial Redox (EH) em matrizes ambientais. Quim. Nova, v. 37, n. 7, p. 1233-1235, 2014.

KIM, F. J. P.; SILVA, A. E. M.; SILVA, R. V. S.; KIM, P. C. P.; ACOSTA, A. C.; SILVA, S. M. B. C.; SENA, M. J.; MOTA, R. A.. Detecção de *Aeromonas* spp. e do

gene de virulência aerolisina em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com a técnica de mPCR1 Pesq. Vet. Bras., v. 38, n. 9, p. 1731-1735, 2018.

LANDIM, P.M.B. Análise Estatística de Dados Geológicos Multivariados. São Paulo: Oficina de Textos, p. 208, 2011.

LEHMANN, M.; VINATEA, L. METODOLOGIA DE AMOSTRAGEM DE SOLO PARA A DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL REDOX EM VIVEIROS DE CULTIVO DE ÁGUA DOCE E SALGADA. B. Inst. Pesca, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 131-140, 2008.

LEIRA, M. H.; REGHIM, L. S.; CIACCI, L. S.; CUNHA, L. T.; BOTELHO, H A.; BRAZ, M. S.; DIAS, N. P.; MELO, C. C. V.. Problemas sanitários das pisciculturas brasileiras. PUBVET, v.11, n. 6, p. 538-544, 2017.

LIU, H.; WHITEHOUSE, C. A.; LI, B.. Presence and Persistence of *Salmonella* in Water: The Impact on Microbial Quality of Water and Food Safety. Front Public Health, v. 6, p. 159, 2018.

LIZAMA, M. L. A. P.; TAKEMOTO, R. M.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; AYROZA, L. M. S.; PAVANELLI, G. C.. Relação parasito-hospedeiro em peixes de pisciculturas da região de Assis, Estado de São Paulo, Brasil. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). Acta Sci. Biol. Sci. Maringá, v. 29, n. 2, p. 223-231, 2007.

MCLACHLAN, G. Discriminant analysis and statistical pattern recognition. John Wiley & Sons, v. 544, p. 519, 2004.

MATHAI, P. P.; DUNN, H. M.; MAGNONE, P.; ZHANG, Q.; ISHII, S.; CHUN, C. L.; SADOWSKY, M. J.. Association between submerged aquatic vegetation and elevated levels of *Escherichia coli* and potential bacterial pathogens in freshwater lakes. Science of the Total Environment, v. 657, p. 319-324, 2019.

NI, P.; XU, Q.; YIN, Y.; LIU, D.; ZHANG, J.; WU, Q.; TIAN, P.; SHI, X.; WANG, D.. Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars isolated from farm products in Shanghai. Food Control, v. 85, p. 269-275, 2018.

ONO, E. A.; KUBITZA, F. Construção de viveiros e de estruturas hidráulicas para o cultivo de peixes. Panorama da Aquicultura, v. 12, n. 73, p. 29, 2002.

PEREIRA, P. S.; FERNANDES, L. A. C.; OLIVEIRA, J. L. M.; BAPTISTA, D. F.. Avaliação da integridade ecológica de rios em áreas do zoneamento ecológico econômico do complexo hidrográfico Guapiaçu-Macacu, RJ, Brasil. Ambi-Agua, v. 7, n. 1, p. 57-168, 2012.

ROCHA, M. P.; DOURADO, P. L. R.; RODRIGUES, M. S.; RAPOSO JR, J. L.; GRISOLIA, A. B.; OLIVEIRA, K. M. P. The influence of industrial and agricultural waste on water quality in the Água Boa stream (Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil). *Environmental monitoring and assessment*, v. 187, n. 7, p. 442, 2015.

ROCHA, M. P.; VAINI, J. O.; AMARAL, B. C.; OLIVEIRA, L. S.; OLIVERA, K. M. P.; GRISOLIA, A. B.. Identification of microbiological contamination and mutagenic potential of surface waters of the municipality of Dourados, MS. *Ciência e Natura*, v. 40, n. 38, p 1-8, 2018.

SCHERR, C.; GAGLIARDI, A.C.M.; MINAME, M.H.; SANTOS, R. D.. Concentração de Ácidos Graxos e Colesterol de Peixes Habitualmente Consumidos no Brasil. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, v.104, p.152-158, 2014.

SEO, J.; BOY, C. E. Effects of bottom soil management practices on water quality improvement in channel catfish *Ictalurus punctatus* ponds. *Aquacultural Engineering*, v. 25, n. 2, p. 83-97, 2001.

SILVA, A. S.; BARROS, L. S. S.; LIMA, D. V.; VELAME, D. S.. *Aeromonas* spp in fish and in continental Waters. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 12, n. 4, p. 351-384, 2018.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V.C.A., SILVEIRA, N.F.A., TANIWAKI, M.H., GOMES, R.A.R., OKAZAKI, M.M. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 5ª ed. – São Paulo: Blucher, p. 560, 2017.

SOBRINHO, F. B. S.; SÁ, M. C. A.; GOUVEIA, G. V.; COSTA, M. M.; FARIA, M. D.; MILANELO, L.; GRADELA, A. Isolamento e determinação de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de cepas bacterianas presentes na cloaca de *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839) criadas em cativeiro em Petrolina, PE. *Pesq. Vet. Bras.* v. 37, n. 3, p. 261-268, 2017.

TORRES, I. A.; SILVA, T. M. F.; RODRIGUES, L. S.; SILVA, I. J.; COSTA, T. A.; SOTO-BLANCO, B.; MELO, M. M.. Avaliação físico-química de amostras de água, sedimento e mata ciliar de uma piscicultura localizada em área agroindustrial à margem do Ribeirão da Mata (MG). *Eng Sanit Ambient*, v.22, n.4, p. 773-780, 2017.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos concluir que o monitoramento e o tratamento dos efluentes das pisciculturas no Brasil ainda é uma prática pouco difundida devida a falta de regulações, normatizações e legislações direcionada as pisciculturas. A utilização do PET como substrato artificial para o desenvolvimento da comunidade perifítica, se mostrou eficaz pela quantidade de material (perifiton) aderido as lâminas. O monitoramento da sanidade das pisciculturas através das bactérias patogênicas encontradas no perifiton permitiu verificar a contaminação dos tanques no período de 30 dias. Foi possível verificar que os efluentes das pisciculturas apresentam altos valores para o fósforo total e bactérias patogênicas e a falta de um sistema de tratamento de efluentes nas pisciculturas permite o descarte dos efluentes diretamente no córrego sem tratamento. Os efluentes das atividades antrópicas acarretaram vários problemas no ambiente aquático, desde o aumento de proliferação das algas ocasionando a eutrofização do ambiente, e até mesmo a mortandade e declínio de espécies mediante a presença de produtos químicos, gorduras e contaminantes na água. Recomenda-se o monitoramento constante das pisciculturas como uma ferramenta para prevenir o alastramento de doenças, de correção da qualidade da água dos tanques pelo excesso de nutrientes dissolvidos, e o principal como um controle nos prejuízos que o produtor possa ter devido a mortandade dos peixes.

7. REFERÊNCIAS

- AGRA, J. U. M.; KLINK, J. M.; RODRIGUES, G. G. Monitoramento da Piscicultura em Reservatórios: Uma Abordagem Ecológica. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 5, n. 6, p. 1457-1472, 2012.
- AHNEN, M. V.; PEDERSEN, P. B.; HOFFMANN, C. C.; DALSGAARD, J. Optimizing nitrate removal in woodchip beds treating aquaculture effluent. *Aquaculture*, v. 458, p. 47–54, 2016.
- AMÉRICO, J. H. P.; TORRES, N. H.; MACHADO, A. A.; CARVALHO, S. L. Piscicultura em Tanques-Rede: Impactos e Consequências na Qualidade da Água. *Científica ANAP Brasil*, v. 6, n. 7, p. 137-150, 2013.
- ARDIANSYAH; FOTEDAR, R. Water quality, growth and stress responses of juvenile barramundi (*Lates calcarifer* Bloch), reared at four different densities in integrated recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, v. 458, p. 113–120, 2016.
- AZEVEDO, P.A.; PODEMSKI, C.L.; HESSLEIN, R.H.; KASIAN, S.E.M.; FINDLAY, D.L.; BUREAU, D.P. Estimation of waste outputs by a rainbow trout cage farm using a nutritional approach and monitoring of lake water quality. *Aquaculture*, v.311, p.175-186, 2011.
- AZMAT, H.; JAVED, M.; HUSSSAIN, S. M.; JAVID, A.; JABEEN, G. Impacts of Physico-Chemical Parameters on Fish Grown Under Heavy Metal Stress. *Pakistan J. Zool.*, v. 48, n. 3, p. 795-807, 2016.
- BACCARIN, A. E.; CAMARGO, A. F. M. Characterization and evaluation of the feed management on the effluents of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 48, n. 1, p. 81-90, 2005.
- BARBIERI, E.; MARQUEZ, H. L. A.; CAMPOLIM, M. B.; SALVARANI, P. I. Avaliação dos Impactos ambientais e socioeconômicos da aquicultura na região stuarina-lagunar de Cananéia, São Paulo, Brasil. *Revista de Gestão Costeira Integrada / Journal of Integrated Coastal Zone Management*, v. 14, n. 3, p. 385-398, 2014.
- BRANDIMARTE, A.L; SHIMIZU, G.Y; ANAYA, M.; KUHLMAN, M.L. Amostragem em Limnologia. Ed. RiMa, 2d. p. 213-228, 2007.
- BURRIDGE, L.; WEIS, J.S.; CABELLO, F.; PIZARRO, J.; BOSTICK, K. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, v. 306, p.7-23, 2010.

- CANALE, R. P.; WHELAN, G.; SWITZER, A.; EISCH, E. A bioenergetic approach to manage production and control phosphorus discharges from a salmonid hatchery. *Aquaculture*, v.451, p.137-146, 2016.
- CARVALHO-VARELA, M. Parasitas e parasitoses em piscicultura, O.M.V., Portugal, p. 580, 2005.
- CHENIA, H. Y. Prevalence and characterization of plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Aeromonas* spp. isolated from South African freshwater fish. *Int. J. Food Microbiol.*, v. 231, p. 26-32, 2016.
- COSTA, A. B. Estratégias para o estudo de bactérias potencialmente patogênicas na piscicultura. *Panorama da Aquicultura*, v. 12, n. 71, p. 387-403, 2002.
- CYRINO, J. E. P.; BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J. K. A piscicultura e o ambiente - O uso de alimentos ambientalmente correto sem pisciculturas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, p. 68-87, 2010.
- DAVID, L. H. C.; RODRIGUES, R. A.; CAMPOS, D. W. J.; ROMERA, D. M.; GARCIA, F. Perifiton: uma opção de alimento complementar na aquicultura - Parte I. *Revista Aquaculture*, 13 ed., p. 17-20, 2018.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The State of World Fisheries and Aquaculture: Contributing to Food Security and Nutrition for All*. Roma. p.204, 2016.
- FENT, K.; WENSTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, v. 76, n. 2, p. 122-159, 2006.
- FERREIRA, D.; BARCELLOS, L. J. G.. ENFOQUE COMBINADO ENTRE AS BOAS PRÁTICAS DE MANEJO E AS MEDIDAS MITIGADORAS DE ESTRESSE NA PISCICULTURA. *B. Inst. Pesca*, v. 34, n. 4, p. 601-611, 2008.
- FERREIRA, P. S., SILVA, C. A.. A expansão da cana-de-açúcar na bacia hidrográfica do Rio Brilhante, Mato Grosso do Sul: o uso da técnica de NDVI como instrumento para evidenciar dinâmicas territoriais. *Geografares*, v. 2, n. 22, p. 66 – 81, 2016.
- HARNISZ, M.; KORZENIEWSKA, E.; GOLAS, I. The impact of a freshwater fish farm on the community of tetracycline-resistant bacteria and the structure of tetracycline resistance genes in river water. *Chemosphere*, v. 128, p. 134-141, 2015.

- HE, X.; DENG, M.; WANG, Q.; YANG, Y.; YANG, Y.; NIE, X. Residues and health risk assessment of quinolones and sulfonamides in cultured fish from Pearl River Delta, China. *Aquaculture*, n. 458, v. 1, p. 38-46, 2016.
- HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M. Tratamento de efluentes de carcinicultura por macrófitas aquáticas flutuantes. *R. Bras. Zootec.*, v. 37, n. 2, 2008.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da pecuária municipal. Rio de Janeiro – RJ, v. 44, p. 1-51, 2016.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Tabela 3940: Produção da aquicultura, por tipo de produto, 2018. <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado>>. Acessado em: 10 de fevereiro de 2019.
- JHA, S.; RAI, S.; SHRESTHA, M.; DIANA, J. S.; MANDAL, R. B.; EGNA, H.. Production of periphyton to enhance yield in polyculture ponds with carps and small indigenous species. *Aquaculture Reports*, v. 9, p. 74-81, 2018.
- JÚNIOR, E. F. M.; CORDEIRO, G. L.; SILVA, M. J. L. QUALIDADE DA ÁGUA EM VIVEIROS DE TAMBACUI *Colossoma macropomum* –CUVIER, 1818 , EM SÃO GABRIEL DA CACHOEIRA, AMAZONAS, BRASIL. *Revista de Educação, Ciência e Tecnologia do IFAM*, v. 12, n. 1, p. 22-31, 2018.
- KUBITZA, F. A versatilidade do sal na piscicultura. *Revista Panorama da Aquicultura*, v. 17, n. 103, p. 14-23, 2007.
- KUBITZA, F. Aquicultura no Brasil: principais espécies, áreas de cultivo, rações, fatores limitantes e desafios. *Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro, v. 25, n. 150, p. 10-23, 2015.
- MACEDO, C. F.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H.. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. *Bol. Inst. Pesca*, v. 36, n. 2, p. 149-163, 2010.
- MMA – Ministério do Meio ambiente, <http://www.mma.gov.br/estruturas/sececx_consumo/_arquivos/3%20-%20mcs_agua.pdf>. Acessado em: 10 de setembro de 2018.
- MOORE, J. E.; HUANG, J.; YU, P.; MA, C.; MOORE, P. J. A.; MILLAR, B. C.; GOLDSMITH, C.E.; XU, J. High diversity of bacterial pathogens and antibiotic resistance in salmonid fish farm pond water as determined by molecular identification employing 16S rDNA PCR, gene sequencing and total antibiotic susceptibility techniques. *Ecotox. Environ. Safe.*, v. 108, p. 281–286, 2014.

- MORLEY, N. J. Environmental risk and toxicology of human and veterinary waste: pharmaceutical exposure to aquatic host-parasite relationships. *Environmental Toxicology Pharmacology*, v. 27, n. 2, p. 161-175, 2009.
- MOSCHINI-CARLOS, V.. Importância, estrutura e dinâmica da comunidade perifítica nos ecossistemas aquáticos continentais. *Perspectivas na Limnologia no Brasil*. Gráfica e Editora União, São Luís, p. 1-11, 1999.
- MPA – Ministério de Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, p. 60, 2011.
- NABIRYE, H.; MWEBAZA-NDAWULA, L.; BUGENYI, F. W. B.; MUYODI, F. J. The evaluation of cage fish farming effects on water quality using selected benthic macro-invertebrate community parameters in the napoleon gulf, northern Lake Victoria. *Int. J. Fish. Aquati. Stud.*, v. 4, n. 1, p. 42-50, 2016.
- PEREIRA, D.; MANSUR, M. C. D.; VOLKMER-RIBEIRO, C.; OLIVEIRA, M. D.; SANTOS, C. P.; BERGONCI, P. E. A.. Colonização de substrato artificial por macroinvertebrados límnicos, no delta do rio Jacuí (RS, Brasil). *Biotemas*, v. 23, n. 1, p. 101-110, 2010.
- REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. *Águas Doces no Brasil: Capital Ecológico, Uso e Conservação*. 2. ed. São Paulo: Escrituras, p. 703, 2002.
- ROCHA, M. P.; DOURADO, P. L. R.; RODRIGUES, M. S.; RAPOSO JR, J. L.; GRISOLIA, A. B.; OLIVEIRA, K. M. P.. The influence of industrial and agricultural waste on water quality in the Água Boa stream (Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil). *Environmental monitoring and assessment*, v. 187, n. 7, p. 442, 2015.
- SAMPAIO, F. G.; LOSEKANN, M. E.; LUIZ, A. J. B; NEVES, M. C.; FRASCÁ-SCORVO, C. M. D.; RODRIGUES, G. S. Monitoramento e gestão ambiental da piscicultura em tanques-rede em reservatórios. *Informe Agropecuário*, v. 34, n. 272, p. 1-11, 2013.
- SEBASTIÃO, F. A.; PILARSKI, F.; LEMOS, M. V. F.. Caracterização molecular de isolados de *Flavobacterium columnare* de tilápia do Nilo e Piracanjuba por meio de RAPD-PCR. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 36, n. 4, p. 325-331, 2010.
- SIGNOR, A.; SIGNOR, A. A.; BOSCOLO, W. R.; REIDEL, A.; KLEIN, S.; FEIDEN, A.. Periphyton biomass on artificial substrates during the summer and winter. *Ciência Rural, Santa Maria*, v.45, n.1, p.72-78, 2015.
- SILVER, W. Assessing environmental impact of finfish aquaculture in marine Waters. *Aquaculture*, v. 107, n. 1, p. 67-79, 1992.

- SLÁDECKOVÁ, A. Green algae and waste treatment technology. *Biologia*, Bratislava, v. 49, n. 4, p. 615-619, 1994.
- SOBRINHO, F. B. S.; SÁ, M. C. A.; GOUVEIA, G. V.; COSTA, M. M.; FARIA, M. D.; MILANELO, L.; GRADELA, A. Isolamento e determinação de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de cepas bacterianas presentes na cloaca de *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839) criadas em cativeiro em Petrolina, PE. *Pesq. Vet. Bras.* v. 37, n. 3, p. 261-268, 2017.
- STEPHENS, W.; FARRIS, J. L. A biomonitoring approach to aquaculture effluent characterization in channel catfish fingerling production. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 241, n. 1-4, p. 319-330, 2004.
- TACON, A. G. J.; FOSTER, I. P. Aqua feeds and the environment: policy implications. *Aquaculture*, v. 226, n. 1, p. 181-189, 2003.
- TORRES, I. A.; SILVA, T. M. F.; RODRIGUES, L. S.; SILVA, I. J.; COSTA, T. A.; SOTO-BLANCO, B.; MELO, M. M.. Avaliação físico-química de amostras de água, sedimento e mata ciliar de uma piscicultura localizada em área agroindustrial à margem do Ribeirão da Mata (MG). *Eng Sanit Ambient*, v.22, n.4, p. 773-780, 2017.
- WETZEL, R. G. Recommendations for future research on periphyton. *Springer Netherlands*, v. 17, p. 339-346, 1983.
- WETZEL, R. G. Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators. *Verh. Int. Ver Limnol.*, n. 24, p. 6- 24, 1990.