

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ADIÇÃO DE SAL COMUM (NaCl) NA RAÇÃO E NA
ÁGUA NO CONTROLE DE *Ichthyophthirius multifiliis* E
CRESCIMENTO DE JUVENIS DE JUNDIÁ *Rhamdia
quelen* (HEPTAPTERIDAE)**

Dissertação de Mestrado

Luciano de Oliveira Garcia

Santa Maria, RS, Brasil, 2005

**ADIÇÃO DE SAL COMUM (NaCl) NA RAÇÃO E NA ÁGUA NO
CONTROLE DE *Ichthyophthirius multifiliis* E CRESCIMENTO DE
JUVENIS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (HEPTAPTERIDAE)**

por

Luciano de Oliveira Garcia

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal - Fisiologia de Peixes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**

Orientador: Dr. Bernardo Baldisserotto

Santa Maria, RS, Brasil

2005

G216a Garcia, Luciano de Oliveira, 1971-
Adição do sal comum (NaCl) na ração e na água no controle de *Ichthyophthirius multifiliis* e crescimento de juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* (Heptapteridae) / por Luciano de Oliveira Garcia ; orientador Bernardo Baldisserotto. – Santa Maria, 2005.
x , 54 f . ; il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, 2005.

1. Zootecnia 2. Sal na ração 3. *Ichthyophthirius multifiliis*
4. Jundiá 5. *Rhamdia quelen* 6. Crescimento do jundiá 7. Mortalidade do jundiá 8. Íons corporais I. Baldisserotto, Bernardo, orient. II. Título

CDU: 639.3

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Área de Concentração: Produção Animal – Fisiologia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ADIÇÃO DE SAL COMUM (NaCl) NA RAÇÃO E NA ÁGUA NO
CONTROLE DE *Ichthyophthirius multifiliis* E CRESCIMENTO DE
JUVENIS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (HEPTAPTERIDAE)**

elaborada por

LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr. Bernardo Baldisserotto
(Presidente/Orientador)

Dr. Leonardo Barcellos

Dr. Paulo César Falanghe Carneiro

Santa Maria, 14 de fevereiro de 2005.

DEDICO

A MINHA ESPOSA CLEIVA E AOS MEUS FILHOS LUCIANO JÚNIOR E LÚCIO, QUE COM PACIÊNCIA E COMPREENSÃO SUPERARAM JUNTO COMIGO MAIS ESTA ETAPA DE MINHA VIDA E FORMAÇÃO. AOS MEUS PAIS DANILO E JUÇARA PELA EDUCAÇÃO E APOIO A MIM DEDICADO DURANTE TODOS ESTES ANOS DE MINHA VIDA.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador prof. Dr. Bernardo Baldisserotto pela oportunidade concedida de aprimorar meus conhecimentos, bem como pela orientação, amizade e dedicação durante este período, pois sem as quais a elaboração e finalização deste trabalho seriam impossíveis.

Agradeço a todos os colegas de curso pela amizade durante este período. A todos colegas e amigos do Laboratório de Fisiologia de Peixes, Ana Paula, Luciana, Neiva, Ronaldo, Keidi, Felipe, e especialmente ao colega e amigo Alexssandro Geferson Becker e Carlos Eduardo Copatti pelo companheirismo, amizade e ajuda prestadas para a realização deste trabalho.

A Sr^a. Olirta, funcionária desta universidade e secretária do curso de pós-graduação em Zootecnia, pelo apoio técnico nos momentos necessários.

A todos os professores do curso de Pós-Graduação em Zootecnia, especialmente ao professor Dr. João Radünz Neto pela co-orientação e amizade durante esta caminhada.

A minha esposa e filhos por terem me compreendido durante esta fase, por terem sofrido junto comigo nas situações difíceis e também festejado quando tudo dava certo. Pela minha ausência durante o período de aulas e pelos dias e noites que passei no laboratório, não podendo dar muita atenção a eles.

A meu pai e minha mãe, por terem me concebido e me dado à educação necessária para ter chego até este momento de grande felicidade. Aos meus irmãos e minha avó por estarem torcendo por mim para que tudo desse certo.

A minha orientadora espiritual “Jurema”, que me ajudou a me manter sempre firme, e determinado nos objetivos a que me propus e que mesmo nos momentos difíceis desta caminhada, EU com sua ajuda, consegui superá-los.

Quero agradecer também a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

Á Deus por ter conseguido vencer mais esta etapa do meu processo de aprendizagem e de vida.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós Graduação em Zootecnia
Centro de Ciências Rurais
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

ADIÇÃO DE SAL COMUM (NaCl) NA RAÇÃO E NA ÁGUA NO CONTROLE DE *Ichthyophthirius multifiliis* E CRESCIMENTO DE JUVENIS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (HEPTAPTERIDAE)

AUTOR: LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA

ORIENTADOR: BERNARDO BALDISSEROTTO

Data e local da defesa: Santa Maria, 14 fevereiro de 2005

A crescente proliferação de parasitas de peixes de água doce preocupa os produtores. Um dos principais causadores de sérias perdas na aquicultura é o protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*, pois infestações severas deste parasita ocasionam grandes mortalidades, revertendo-se em perdas econômicas aos produtores. Então, o objetivo deste estudo foi verificar a adição de sal comum (NaCl) na ração e na água no controle de *Ichthyophthirius multifiliis* e crescimento de juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). Após o aparecimento das primeiras manchas brancas, indicando infestação pelo parasita, os mesmos foram transferidos para 18 caixas de polipropileno de 40 l, onde permaneceram por 30 dias. As dietas experimentais foram preparadas com acréscimo de NaCl (1,0; 2,0; 4,0 e 6,0 %) em uma ração base sem sal (0,0 %). Além disso, um grupo recebeu uma ração sem adição de sal e foi exposto a 4 g/l sal na água. Juvenis foram coletados em diferentes tempos para que fossem feitas as análises de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ corporais. A adição de sal na ração provoca um aumento transitório nos níveis corporais de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ dos

juvenis, porém a melhor estabilização destes níveis iônicos em juvenis infestados com ictio é observada em exemplares expostos ao sal na água. Os resultados permitem concluir que uma dieta, contendo adição de cerca de 1,0 % de sal (31 mmol/kg de Na^+ e 145 mmol/kg de Cl^-) usando a formulação base leva a um aumento de peso e biomassa dos juvenis de jundiá em relação ao tratamento com 6 % de sal na ração em um período de 30 dias, mas a maior sobrevivência ao ictio foi obtida com a exposição ao sal na água.

Palavras chaves: Ictioftiríase; protozoário, dieta, Na^+ , Cl^- , infestação, mortalidade, íons corporais.

ABSTRACT

Master Dissertation

Animal Husbandry Graduate Course

Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

DIETARY AND WATERBORNE SALT (NaCl) ON THE CONTROL OF *Ichthyophthirius multifiliis* AND GROWTH OF JUVENILE SILVER CATFISH *Rhamdia quelen* (HEPTAPTERIDAE)

AUTHOR: LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA

ADVISER: BERNARDO BALDISSEROTTO

The increasing proliferation of freshwater fish parasites causes concerns to the fish farmers. One of the main diseases in fish culture is the ciliate protozoan *Ichthyophthirius multifiliis*, because severe infections of this parasite provoke high mortalities, causing economical losses to the producers. The objective of this study was to verify the efficacy of the common salt (NaCl) in the food and in the water in the control of *Ichthyophthirius multifiliis* and growth of juvenile silver catfish *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). After the appearance of the first white spots, indicating infection by this parasite, fish were transferred to eighteen 40 l polypropylene boxes and kept for 30 days. The experimental diets were prepared with salt supplementation (1.0, 2.0, 4.0, and 6.0%) in a diet without salt (0.0%). In addition, in another treatment fish were fed with a diet without salt supplementation and exposed to 4 g/l salt in the water. Juveniles were collected at different times for analyses of whole body Na⁺, K⁺, and Cl⁻. Dietary salt supplementation provoked a transitory increase in the whole body Na⁺, K⁺ and Cl⁻ of silver catfish juveniles, but a better stabilization of these ionic levels in infected juveniles was observed in specimens exposed to salt in the water. The obtained results allow to conclude that a diet containing 1.0 % salt (31 mmol/kg Na⁺ and 145 mmol/kg Cl⁻) using the present formulation increases weight and biomass of juvenile silver catfish in relation to the treatment with 6% of salt in the ration in 30 days, but the highest survival of infected fish was obtained with exposure to salt in the water.

Key words: Ichthyophthiriasis; protozoan, diet, Na⁺, Cl⁻, infected, mortality, whole body ions.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL	12
OBJETIVOS GERAIS	13
Objetivos específicos	13
CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	46
BIBLIOGRAFIA GERAL	47

INTRODUÇÃO GERAL

O jundiá *Rhamdia quelen* (Heptapteridae) tem uma distribuição neotropical desde o sudeste do México até o centro da Argentina (SILFVERGRIP, 1996). É um peixe nativo que apresenta boa produtividade em cativeiro, boa aceitação no mercado consumidor (RADÜNZ NETO, 1981) e tem se destacado na comercialização brasileira de pescado (EMATER, 1995; IBAMA, 2000). A produção brasileira de peixes da espécie *R. quelen* atingiu 2.500 toneladas, colocando-a como quinta espécie nativa mais cultivada, e a sua produção cresce progressivamente (IBAMA, 2000).

Uma das principais causas das doenças, quando se pretende intensificar qualquer processo de confinamento de peixes é o estresse, que ocorre durante o transporte e o manuseio excessivo do peixe (BRANDÃO, 2004) e para o jundiá estas respostas fisiológicas são semelhantes aos demais peixes teleósteos (BARCELLOS *et al.* 2001).

O progresso e desenvolvimento da piscicultura está relacionado diretamente com a possibilidade de se cultivar o maior estoque possível de peixes, no menor volume de água disponível (PAVANELLI *et al.*, 1998). Além disso, altas densidades de estocagem estão relacionadas com o crescimento de juvenis de jundiá quando confinados, pois com uma densidade de 100 juvenis/m³ se obtêm um maior peso (63,7 g), mas com 300 juvenis/m³ a produção aumenta três vezes mais e com um bom rendimento (alevinos de 30 a 40 g) (BARCELLOS *et al.*, 2004). No entanto, peixes mantidos em uma alta densidade de estocagem estão sujeitos a alterações na qualidade da água e essas variações são consideradas fatores estressantes que associados ao manejo, reduzem a capacidade imunológica do peixe (PAVANELLI *et al.*, 1998; BRANDÃO, 2004).

A grande maioria das doenças ocorre na primavera, pois após passarem pelo outono e o inverno, os jundiás encontram-se enfraquecidos devido às baixas temperaturas e por reduzirem as suas atividades alimentares, metabólicas e imunológicas (BRANDÃO, 2004).

Frente a grande variedade de doenças e parasitoses de peixes, no que se refere aos protozoários, verifica-se que a espécie mais importante é sem dúvida o *Ichthyophthirius multifiliis*. O seu ciclo de vida inclui uma fase reprodutiva, o tomonte, um teronte infectivo e um trofote, forma livre natante que irá penetrar no tecido do hospedeiro (McCARTNEY *et al.*, 1985; DICKERSON & DAWE, 1995; XU *et al.*, 2001). Este protozoário é um importante ectoparasita

que se localiza na pele, entre a derme e a epiderme e nas brânquias dos peixes, sendo sinais de infestação a irritação e os pontos brancos facilmente identificados a olho nu na pele. Este agente patogênico causa a doença conhecida como “doença dos pontos brancos”, “ich”, ou ainda “ictioftiríase” (HOFFMAN & BAUER, 1971; NIGRELLI *et al.*, 1976; KUBITZA, 1998; BRANDÃO, 2004). Trata-se de um protozoário ciliado da subordem Ophryoglenina da ordem Hymenostomatida, com distribuição geográfica que pode ser considerada mundial e sem especificidade parasitária, mas obrigatória quando na sua fase de trofonte (CHAPMAN, 1984).

Quando parasitados, os peixes mostram movimentos violentos de fricção, chocando-se contra as paredes, fundo do viveiro, pedras, troncos e plantas aquáticas submersas e após algum tempo entram em estado de apatia (PRIETO *et al.*, 1991). A parasitose é particularmente grave quando ocorre nas brânquias, pois causa sérios problemas respiratórios, e se não for combatida a tempo, pode provocar rapidamente a morte do hospedeiro (HOFFMAN & BAUER, 1971; NIGRELLI *et al.*, 1976; PAVANELLI *et al.* 1998; BRANDÃO, 2004). O controle da ictioftiríase tem sido possível através da utilização de uma série de substâncias que são empregadas de forma efetiva. Entre estas encontra-se o sal comum, o verde de malaquita, a formalina, a combinação de verde de malaquita e formalina, azul de metileno e permanganato de potássio (VAN DUIJN, 1956; KABATA, 1985; POST, 1987; CECCARELLI *et al.*, 1994; TONGUTHAI, 1997; SRIVASTAVA, *et al.*, 2004). A utilização de sal na água tem se mostrado muito eficaz no controle do *I. multifiliis* no jundiá (Miron *et al.*, 2003) e em algumas outras espécies de água doce (SELOSSE & ROWLAND, 1990).

A formulação de rações tem como objetivo básico encontrar uma mistura adequada de ingredientes capaz de ser processada adequadamente e que forneça todos os nutrientes exigidos para o crescimento, reprodução e adequada saúde dos peixes, de uma forma bem equilibrada (balanceada), palatável e a custo aceitável. Boa qualidade da água dos tanques e manejo nutricional adequado garantem a saúde e o desempenho produtivo dos peixes (KUBITZA, 1998; RADÜNZ NETO, 2004).

Os peixes de água doce perdem constantemente íons para o meio externo pela difusão através das brânquias, pela superfície do corpo e pela excreção nas fezes e urina. O balanço iônico é mantido pelo ativo fluxo de íons nas brânquias (EVANS, 1993; D’CRUZ & WOOD, 1998) e pela dieta (SALMAN & EDDY, 1987; 1988; SMITH *et al.*, 1989; 1995; D’CRUZ & WOOD, 1998). As dietas são uma fonte importante de sais que podem satisfazer as

exigências do processo de osmorregulação dos peixes de água doce, pois suprindo estas necessidades deixa uma maior quantidade de energia, que seria gasta na osmorregulação, para o crescimento (GATLIN III *et al.*, 1992).

O uso do sal comum na dieta seria uma alternativa para tentar controlar a ictioftiríase, pois a ingestão de sal pode compensar a perda iônica que ocorre para o meio quando os peixes estão infestados, favorecendo o crescimento, e além disto, poderia reduzir a virulência dos trofontes quando estes estivessem nos tecidos dos peixes.

OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve por objetivo estudar a eficácia do tratamento do protozoário ciliado *I. multifiliis* através de diferentes concentrações de NaCl na dieta, bem como seu uso na água.

Objetivos específicos

- Avaliar o acréscimo de sal comum (NaCl) em diferentes concentrações na ração e na água com relação ao crescimento, mortalidade e ganho de peso dos juvenis de jundiá infestados com o parasita *I. multifiliis*;
- Verificar se o sal adicionado na ração e na água irá desempenhar um controle efetivo do parasita *I. multifiliis*;
- Avaliar as concentrações dos íons sódio, potássio e cloro nos tecidos dos juvenis infestados com parasita *I. multifiliis*.

Ração suplementada com sal comum (NaCl) no controle de *Ichthyophthirius multifiliis* e crescimento de juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae)

L.O. Garcia¹, A. G. Becker¹, C.E. Copatti¹, J. Radünz Neto², B. Baldisserotto^{1*}

1 – Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brasil

2 – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brasil

* Autor para correspondência:

Bernardo Baldisserotto

Departamento de Fisiologia

Universidade Federal de Santa Maria

97105.900 Santa Maria, RS, Brasil

Telefone (55) 220-9382 fax (55) 220-8241

e-mail – bernardo@smail.ufsm.br

Este trabalho será enviado para a revista International Journal for Parasitology.

Resumo

A crescente proliferação de parasitas de peixes de água doce preocupa os produtores. Um dos principais causadores de sérias perdas na aquicultura é o protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*, pois infestações severas deste parasita ocasionam grandes mortalidades, revertendo-se em perdas econômicas aos produtores. Então, o objetivo deste estudo foi verificar a eficácia da adição de sal comum (NaCl) na ração e na água no controle de *Ichthyophthirius multifiliis* e crescimento de juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). Após o aparecimento dos primeiros pontos brancos, indicando infestação pelo parasita, os mesmos foram transferidos para 18 caixas de polipropileno de 40 l, onde permaneceram por 30 dias. As dietas experimentais foram preparadas com acréscimo de sal (1,0; 2,0; 4,0 e 6,0 %) em uma ração base sem sal (0,0 %). Além disso, um grupo recebeu uma ração sem adição de sal e foi exposto a 4 g/l de sal na água. Juvenis foram coletados em diferentes tempos para que fossem feitas as análises de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ corporais. A adição de sal na ração provoca um aumento transitório nos níveis corporais de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ dos juvenis, mas uma melhor estabilização destes níveis em juvenis infestados com ictio foi observada em exemplares expostos ao sal na água. Os resultados permitem concluir que uma dieta, contendo adição de cerca de 1,0 % de sal (31 mmol/kg de Na⁺ e 145 mmol/kg de Cl⁻) usando a formulação base leva a um aumento de peso e biomassa dos juvenis de jundiá em relação ao tratamento com 6 % de sal na ração em um período de 30 dias, mas a maior sobrevivência ao ictio foi obtida com a exposição ao sal na água.

Palavras chaves: Ictioftiríase; protozoário, dieta, Na⁺, Cl⁻, infestação, mortalidade, íons corporais.

1. Introdução

Um dos mais importantes agentes patogênicos de peixes é o protozoário ciliado chamado *Ichthyophthirius multifiliis* (Selosse and Roland, 1990; Lom and Dykova, 1992; Tumbol *et al*, 2001), encontrado nas pisciculturas e em peixes ornamentais de água doce do mundo inteiro (Hines and Spira, 1973; Nigrelli *et al*, 1976; Goven *et al*, 1980; Ewing and Kocan, 1992; Matthews, 1994; Dikerson and Dawe, 1995; Nielsen and Buchmann, 2000; Xu *et al*, 2001). Esse agente é um ectoparasita que provoca a ictiofitiríase (também chamada de doença dos pontos brancos ou ictio) (Ventura and Paperna, 1985; Wurtsbaugh and Tapia, 1988; Jessop, 1995; Traxler *et al*, 1998; Buchmann and Nielsen, 1999; Gleeson *et al*, 2000; Buchmann *et al*, 2001). O *I. multifiliis* no seu estágio de trofante é um parasita obrigatório (Chapman, 1984) que infesta as brânquias, a pele, os olhos e as nadadeiras dos peixes (Nigrelli *et al*, 1976, Chapman, 1984). A ictiofitiríase causa danos no epitélio do hospedeiro durante o ciclo de vida do parasita ocasionando comprometimento da osmorregulação e troca de gases nas brânquias, podendo causar a morte do hospedeiro (Ewing *et al*, 1994; Tumbol *et al*, 2001).

Consideráveis perdas causadas pela mortalidade ou crescimento reduzido em infestações não letais tem sido relatadas para o cultivo de carpa, truta arco-íris, tilápia, enguia, catfish de canal bem como para peixes ornamentais (Ling *et al*, 1991; Lom and Dyková, 1992; Matthews, 1994; Buchmann and Bresciani, 1997; Scholz, 1999).

O controle da ictiofitiríase tem sido possível através da utilização de uma série de substâncias que são empregadas de forma efetiva. Entre estas se encontra o sal comum (NaCl), o verde de malaquita, a formalina, a combinação de verde de malaquita e formalina, azul de metileno e permanganato de potássio (Van Duijn, 1956; Hoffmann, 1978; Kabata, 1985; Post, 1987; Selosse and Roland, 1990; Alcântara Rocha, 1994; Srivastava *et al*, 2004). Algumas destas

substâncias são prejudiciais ao peixe e ao homem, podendo causar até mesmo câncer em seres humanos, como é o caso do verde de malaquita, um conhecido agente carcinogênico e teratogênico (Nelson, 1974; Srivastava *et al.*, 2004).

A ictiofitiríase pode ser tratada com sucesso utilizando-se 4-5 g/l de sal comum por 2 semanas em perca prateada (*Bidyanus bidyanus*), perca dourada (*Macquaria ambigua*), “Murray code” (*Maccullochella peeli*), o bagre *Tandanus tandanus* (Selosse and Rowland, 1990) e o jundiá (*Rhamdia quelen*) (Miron *et al.*, 2003), mas em algumas espécies, como no catfish de canal, estas doses de sal não tem o efeito desejado (Tieman and Goodwin, 2001). Estas soluções de sal comum reduzem a virulência dos trofontes de *I. multifiliis* nos peixes, sendo que durante os primeiros seis dias de tratamento há uma eliminação da forma livre (teronte). Os trofontes nos peixes tratados apareceram diminuídos e em pequeno número e a disfunção osmorregulatória do teronte pode impedir o desenvolvimento do estágio de trofonte (Selosse and Rowland, 1990). A ictiofitiríase também causa uma perda aguda dos íons Na^+ e Cl^- para o meio externo, de modo que a adição de NaCl potencialmente pode ser usada como um tratamento para a ictiofitiríase para minimizar o impacto fisiológico da aguda perda iônica, como também eliminar o parasita (Tumbol *et al.*, 2001).

Junto ao êxito do tratamento da ictiofitiríase, pela quebra do ciclo de vida do *I. multifiliis*, o NaCl pode também atuar como um agente terapêutico geral pela promoção à produção de muco e a cura do dano na pele e tecido branquial, e pelo ato de ter benefícios osmorregulatórios, anestésico e possivelmente efeitos anti-bacterianos no peixe infestado e estressado (Selosse and Rowland, 1990).

Diante dos prejuízos causados pelo *I. multifiliis* no cultivo de peixes, é de fundamental importância estudar estratégias de controle para combater as infestações causadas por este parasita. Como visto, a utilização do sal comum na água (4-5 g/l) tem se revelado uma estratégia

eficiente para o tratamento da ictioftiríase em, algumas espécies, mas sua aplicação em tanques de cultivo é dispendiosa e pode causar alterações no meio ambiente, por aumentar a quantidade de sais na água que sai dos tanques. Uma vez que o acréscimo de Na^+ na dieta pode ser tão importante quanto o presente na água para suprir as necessidades fisiológicas em truta arco-íris (Smith *et al.* 1989; 1995; Pyle *et al.*, 2003), o uso do sal comum na dieta seria uma alternativa para tentar controlar a ictioftiríase, pois a ingestão de sal pode compensar a perda iônica que ocorre para o meio, favorecendo o crescimento, e além disto, reduzir a virulência dos trofontes quando estes estivessem nos tecidos dos peixes. Portanto, este trabalho tem por objetivo estudar a eficácia de diferentes concentrações de NaCl na dieta no tratamento do protozoário ciliado *I. multifiliis*.

2. Material e métodos

2.1. Animais experimentais

Foram utilizados 960 juvenis de jundiá com idade aproximada de 30 dias, comprimento inicial de 4 cm e peso inicial de 0,72 g obtidos de piscicultores da região de Santa Maria, localizada no sul do Brasil. Estes juvenis não apresentavam nenhum sinal ou sintoma aparente de qualquer enfermidade ao chegarem no laboratório de fisiologia de peixes da Universidade Federal de Santa Maria e foram transferidos para 6 caixas plásticas com capacidade para 250 l de água (volume útil 220 l). Foram acondicionados 160 juvenis/caixa, densidade de estocagem de 0,7 juvenis/l (aproximadamente 0,6 g/l), com aeração (2 bombas de 20 W/caixa), para um período de aclimação às condições laboratoriais e de infestação pelo parasita *Ichthyophthirius multifiliis*.

2.2. Infestação dos juvenis

No 3º dia foi adicionado um juvenil contaminado com o parasita em cada caixa de 250 l para que ocorresse a infestação dos demais. Os juvenis começaram a apresentar os pontos brancos após 9 dias e foram então transferidos para 18 caixas de prolipropileno, com capacidade para 40 l (volume útil 36 l) de água, aonde permaneceram durante os 30 dias experimentais. Nestas foram colocados 50 juvenis/caixa, densidade de estocagem de 1,4 juvenis/l (aproximadamente 1 g/l) e aeração com bomba de 10 W/caixa. Utilizou-se um sistema de circulação aberta (100 ml/min), proporcionando uma troca diária de 4 vezes o volume de água das caixas, com exceção do tratamento no qual à água foi adicionado 4 g/l de sal, onde houve apenas renovação de 15% da água/dia.

Em testes complementares de mortalidade os juvenis foram transferidos para as caixas de 40 l (12 caixas e 10 juvenis /caixa) dois dias após o aparecimento dos pontos brancos. Neste teste, com duração de 4 dias, houve apenas renovação de 15% da água/dia em todos os tratamentos, e a densidade de estocagem foi 0,3 juvenis/l (0,2 g/l). A aeração foi a mesma da descrita anteriormente.

2.3. Dietas experimentais

A ração oferecida aos juvenis de jundiá nos dois experimentos foi preparada de acordo com Coldebella e Radünz Neto (2002). A mesma teve o acréscimo de diferentes concentrações de sal comum iodado (NaCl) (0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0%) e celulose (6,0; 4,0; 2,0; 1,0; 0,0 %) com uma conseqüente diminuição desta nas mesmas proporções da adição de sal (Tabela 1). O sal

utilizado na formulação das rações foi o sal comercial Cisne (Companhia Nacional S.A. RN - Brasil), e o utilizado em adição na água foi o sal comercial Milla (Comércio e moagem de sal Mossoró – SC - Brasil). As concentrações dos íons nas 5 dietas experimentais (0, 1, 2, 4 e 6 % de adição de sal na ração) foram expressas em média \pm erro padrão e seus valores para Na^+ foram respectivamente $3 \pm 0,1$; $31 \pm 0,6$; $63 \pm 1,3$; $127 \pm 1,3$ e $151 \pm 1,3$; para K^+ $56 \pm 4,4$; $42 \pm 0,9$; $40 \pm 0,4$; $48 \pm 1,3$; $41 \pm 2,2$ e para Cl^- 108 ± 35 ; 145 ± 34 ; 436 ± 128 ; 1104 ± 118 ; 1403 ± 242 mmol/kg de ração.

2.4. Manejo dos tanques

A alimentação dos juvenis ocorreu sempre no mesmo horário (8 h) e a quantidade de ração oferecida aos juvenis foi de 5 % da sua biomassa/dia, durante os 30 dias do experimento. Trinta minutos após a alimentação eram retirados as fezes e restos de rações por sifonagem. A retirada de água das caixas, durante o processo de sifonagem, foi de aproximadamente 15 % do total das caixas e a mesma quantidade era repostada nas mesmas condições da que estava nas caixas antes da alimentação. Nas caixas com sal adicionado na água foi retirado 15 % de água e esta era repostada com a mesma proporção de sal, 4 g/l.

2.5. Análise de biometria e níveis de íons corporais

Para que fossem feitas as análises iônicas de Na^+ , K^+ e Cl^- corporais foram coletados 3 juvenis/caixa, em diferentes tempos (0, 6, 12, 24, 26, 36 h e 2, 4, 10, 20, 30 dias) sempre antes da alimentação. Os juvenis foram coletados aleatoriamente, independente do seu comportamento

(natação normal ou sem equilíbrio). Depois de coletados os juvenis foram medidos, pesados, sacrificados e digeridos com ácido sulfúrico (98 %) por 36 h. As análises de Na^+ e K^+ foram realizadas utilizando-se um fotômetro de chama (Micronal B262), e a análise de Cl^- foi realizada através da técnica de Zall *et al.* (1956). Dados de peso foram utilizados para o cálculo da taxa de crescimento específico conforme Jobling (1994) e biomassa total (peso médio x número de exemplares restantes ao final do tratamento). O comportamento alimentar e a natação dos juvenis foram observados durante todo o período experimental em vários períodos no decorrer do dia, e principalmente antes, durante e após a alimentação dos mesmos. Também foi realizada a coleta de água das caixas de todos os tratamentos para análise dos íons Na^+ , K^+ e Cl^- na água.

2.6. Qualidade da água

O pH da água foi monitorado diariamente com um pHmetro DMPH-2 (Digimed, São Paulo, Brasil). Os valores de amônia total foram verificados semanalmente através do método de Nessler segundo Greenberg *et al.* (1976) e os valores de amônia não-ionizada foram calculados segundo Piper *et al.* (1982). O oxigênio dissolvido e a temperatura foram medidos diariamente com oxímetro YSI (modelo Y5512), sendo que a temperatura do laboratório foi mantida com a utilização de um ar-condicionado. Os níveis de alcalinidade total e o nitrito, foram determinados semanalmente segundo Boyd, 1998 e a dureza total da água pelo método titulométrico de EDTA (Greenberg *et al.*, 1976)

2.8. Análise estatística

Foram realizadas análises de variância de dois fatores (tempo x tratamento) para comprimento, peso médio, taxa de crescimento específico, biomassa total e íons corporais, seguida do teste de Tukey. A homogeneidade das variâncias dos diferentes grupos foi verificada com o teste de Levene. Para os dados de mortalidade compararam-se os diferentes tratamentos através de uma análise de variância de um fator, seguida do teste de Tukey. Os cálculos estatísticos foram efetuados com o programa Statistica versão 5.0 (1997). Os valores foram expressos como média \pm erro padrão e o nível mínimo de significância foi de 95% ($P < 0,05$).

3. Resultados

A qualidade da água das caixas permaneceu em níveis considerados bons para o cultivo da espécie estudada para os parâmetros de pH ($7,6 \pm 0,2$), temperatura ($24,0 \pm 1^\circ\text{C}$), oxigênio dissolvido ($5,8 \pm 0,1$ mg/l), amônia total (máximo de $0,2 \pm 0,05$ mg/l), amônia não ionizada (máximo de $0,05 \pm 0,01$ mg/l), alcalinidade total ($39,2 \pm 0,2$ mg/l de CaCO_3), nitrito (abaixo de $0,05 \pm 0,01$ mg/l) e dureza ($18,5 \pm 0,1$ mg/l de CaCO_3). As concentrações dos íons Na^+ , K^+ e Cl^- da água das caixas foram respectivamente 0,95; 0,05 e 0,32 mmol/l.

No primeiro dia de experimento os juvenis infestados formaram grupos dentro de cada caixa, nadando geralmente próximo ao fundo, alimentaram-se normalmente, buscando o alimento logo que era oferecido e não havia regurgitação do mesmo. A partir do 2º dia foram notados choques entre os juvenis, batidas nas laterais da caixa, subida até a superfície da lâmina d'água e próximo à aeração. Também ocorreu uma notável diferença na procura pelo alimento, pois alguns

buscavam o alimento e outros não, sendo que alguns após a ingestão regurgitavam este alimento. Os juvenis que apresentavam maior quantidade de pontos brancos na pele e comportamento anormal afastaram-se do restante do grupo.

A partir do 8º dia os pontos brancos começaram a desaparecer gradualmente, em todos os tratamentos, de modo que no 10º dia não foram mais encontradas os mesmos na superfície corporal dos juvenis e nem no restante do experimento (10º ao 30º dia).

O tratamento com sal adicionado na água apresentou mortalidade significativamente menor ($4,3 \pm 0,06$ % ao final de 30 dias) que o tratamento sem sal na água e sem adição de sal na ração. Os níveis de sal na ração não influenciaram significativamente a mortalidade e o comprimento entre os tratamentos (Tabela 2 e Figura 2 A). Juvenis alimentados por 30 dias com a ração contendo 1% de sal na ração apresentaram peso e biomassa significativamente maior que os exemplares alimentados com 6% de sal na ração. Não houve diferença significativa do peso e da biomassa entre os demais tratamentos (Figura 1A e 1B). A taxa de crescimento específico dos juvenis alimentados por 10 dias com a ração sem adição de sal (0 %) apresentou valor significativamente maior que os juvenis alimentados com a ração contendo 4 % de sal (Figura 2B). Nos primeiros 10 dias, quando os peixes apresentavam sintomas de infestação, a taxa de crescimento específico foi negativa (exceto tratamento com 2 % de sal na ração), ou seja, os peixes perderam peso em relação ao início do experimento (Figura 2B). Além disso, aos 20 dias o tratamento com sal na água apresentou valores significativamente maiores de peso e comprimento que o tratamento com mesma ração e sem sal na água (figura 3A e 3B).

As medidas de Na^+ corporais, iniciadas logo após o aparecimento dos pontos brancos, demonstraram que há uma redução significativa dos níveis corporais deste íon nos tratamentos sem adição de sal na água e com 0 % (entre 26 e 36 h) e 4 % de sal na ração (entre 12 e 24 h) em

relação ao tempo zero (Tabela 4). Nos tratamentos sem adição de sal na água e com 1, 2 e 6 % de sal na ração e no tratamento com adição de sal na água não houve uma alteração significativa dos níveis corporais de Na^+ em relação ao tempo zero após o aparecimento dos pontos brancos (Tabela 4 e figura 4A). No entanto, nos peixes submetidos aos tratamentos sem sal na água e alimentados com 4 % de sal na ração os valores de Na^+ corporais após 10 dias aumentaram significativamente em relação aos tempos de 12 a 96 h. Os valores de Na^+ corporais após 30 dias aumentaram significativamente nos peixes submetidos aos tratamentos sem sal na água e alimentados com ração sem adição de sal em relação aos tempos de 26 a 48 h, e nos alimentados com 2 % de sal na ração de sal na ração em relação ao tempo de 96 h, e nos alimentados com 6 % de sal na ração em relação aos tempos de 12, 24, 48 e 96 h (Tabela 4). O tratamento com 4 g/l de sal dissolvido na água apresentou valores significativamente maiores de Na^+ corporal que o tratamento com a mesma ração, mas sem adição de sal na água, nos períodos de 12 h a 10 dias e 30 dias (Figura 4A).

As medidas de K^+ corporais demonstraram que há uma redução significativa dos níveis corporais deste íon nos tratamentos sem adição de sal na água e com 1 % (entre 24, 36 e 96 h) e 2 % de sal na ração (entre 48 e 96 h) em relação ao tempo zero (Tabela 5). Os valores de K^+ corporais aumentaram significativamente após 20 dias nos peixes submetidos aos tratamentos sem sal na água e alimentados com 0 % de sal na ração em relação aos tempos de 24 a 48 h, nos alimentados com 1, 2 e 3 % de sal na ração em relação ao tempo de 96 h, nos alimentados com 4 % de sal na ração em relação aos tempos de 24 a 96 h (Tabela 5). O tratamento com 4 g/l de sal dissolvido na água apresentou valores significativamente maiores de K^+ corporal que o tratamento com a mesma ração, mas sem adição de sal na água, nos períodos de 6, 24, 26, 48, 96 h e 20 dias (Figura 4B).

As diferentes dietas nos tratamentos sem sal na água não alteraram significativamente os níveis de Cl^- corporais (Tabela 6). O tratamento com 4 g/l de sal dissolvido na água apresentou valores significativamente maiores de Cl^- corporal que o tratamento com a mesma ração, mas sem adição de sal na água, nos períodos de 12 h, 10 e 20 dias (Figura 4C).

No teste de mortalidade foram notados os mesmos comportamentos citados anteriormente, porém os juvenis estavam muito mais infestados pelo “ich”. A procura pela alimentação ocorria, por parte de alguns juvenis, mas estes buscavam o alimento e logo depois o regurgitavam, com exceção dos juvenis que estavam no tratamento com sal dissolvido na água (4 g/l). O tratamento com sal na água apresentou uma mortalidade significativamente menor (50 % após 4 dias) ($P < 0,05$) que os demais tratamentos (100 % em 2 dias).

4. Discussão

A mortalidade dos juvenis de jundiá, em maior ou menor escala, ocorreu de acordo com o estágio da doença. O aparecimento dos pontos brancos pode ser considerado como um indicador da progressão da doença (Tumbol *et al.*, 2001) e está relacionado com a mortalidade. Nos tratamentos sem adição de sal na água a mortalidade foi menor no experimento com circulação aberta que no experimento com renovação ocasional de água provavelmente porque no primeiro os peixes ficaram em caixas com água corrente, a qual possivelmente removia a forma livre natante do *I. multifiliis*, diminuindo a infestação dos peixes. O tratamento sem o uso de agentes químicos, como colocar os peixes em uma pequena lâmina d’água e que seja trocada constantemente, ou transferência dos peixes de um tanque para outro diariamente pode ser usado com sucesso (Brown and Gratzec, 1980; Selosse and Roland, 1990). Porém, estes tratamentos aumentam o estresse dos peixes, aumentando a probabilidade de mortalidade (Selosse and

Roland, 1990). Entretanto, o fluxo de água não foi efetivo para eliminar o ictio do bagre de canal (Tieman and Goodwin, 2001).

A resposta para tratamentos com a utilização de sal varia de acordo com a espécie e a concentração de sal, sendo que 3 g/l foi completamente ineficaz (100 % de mortalidade) para tratar bagre de canal (Tieman and Goodwin, 2001), entretanto, para peixes australianos tratados com 5 g/l de sal comum adicionado na água os pontos brancos desapareceram em aproximadamente 7 dias (Selosse and Roland, 1990). Para juvenis de jundiá o sal comum, 4 g/l, na água dos tanques ocasionou uma diminuição gradual dos pontos brancos e 100 % de sobrevivência (Miron *et al.*, 2003). No presente estudo os tratamentos com adição de sal na ração apresentaram a maior taxa de mortalidade, 30 %, e a menor taxa mortalidade ocorreu no tratamento com sal adicionado na água, 4,3 % ao final dos 30 dias.

O Na^+ pode absorvido pelos peixes de água doce pela captação branquial da água e também via dieta (Smith *et al.*, 1995). Este ganho de Na^+ pode variar de acordo com mudanças que ocorram no influxo branquial ou no influxo dietário. Estudos anteriores demonstraram que uma fonte de Na^+ na dieta pode ser muito importante para as exigências fisiológicas no caso da truta arco íris (Smith *et al.*, 1989, 1995; D’Cruz and Wood, 1998; Pyle *et al.*, 2003). Entretanto, a alimentação pode satisfazer os requerimentos nutricionais excedendo em valor qualquer aspecto regulatório de Na^+ (Salman and Eddy, 1988; Smith *et al.*, 1995). O Na^+ que é absorvido da dieta aumenta os níveis deste íon no plasma sanguíneo sem qualquer efeito na concentração do músculo, fígado ou rins (Smith *et al.*, 1995).

No presente estudo os peixes foram alimentados com dietas contendo diferentes suplementações de NaCl na ração e um maior aumento dos juvenis de jundiá em peso e biomassa (ao menos em relação ao tratamento com 6,0% de sal) foi observado nos exemplares alimentados com 1,0 % de adição de sal à formulação base (Na^+ - 31 e Cl^- - 145 mmol/kg de ração). Para

juvenis de “red drums” (*Sciaenops ocellatus*) em água doce a perda de íons em baixa salinidade limita significativamente o crescimento, e a adição de 2% NaCl na dieta melhora o crescimento e a eficiência alimentar (Holsapple, 1990; Gatlin *et al*, 1992). Contudo, a suplementação de NaCl de 0,25 a 2,0 % em uma dieta basal purificada (0,06% de Na⁺ e 0,17% de Cl⁻) não apresentou nenhum efeito no bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) em água doce (Murray and Andrews, 1979; Gatlin *et al*, 1992).

Após o aparecimento dos pontos brancos nos juvenis de jundiá ocorreu uma perda de íons Na⁺ e K⁺ para o meio nos tratamentos sem adição de sal na água. Passado 10 dias, com o desaparecimento dos pontos brancos, ocorre um aumento dos níveis destes íons até o período final do experimento, havendo uma recuperação destes níveis, os quais aproximam-se dos valores do início do experimento. Esta perda de íons também foi observada em exemplares infestados de “goldfish” (*Carassius auratus*) (Tumbol *et al*, 2001). Esta perda de íons é uma resposta compensatória à infestação pelo parasita, pelo estresse causado pelo mesmo ao hospedeiro e também devido aos danos nos tecidos dos juvenis, principalmente nas brânquias, provocados por este agente etiológico (Ewing *et al*, 1994; Tumbol *et al*, 2001). Os distúrbios iônicos ocorrem de acordo com as respostas compensatórias para suprir as necessidades dos íons. Os peixes que sobrevivem à infestação são capazes de restaurar os íons até valores positivos após a infestação e subsequente traumas (Tumbol *et al*, 2001). A hiperplasia das células de muco também tem um efeito benéfico, pois reduz a velocidade da perda de íons durante a infestação pelo ictio (Handy *et al*, 1989; Fergusson *et al*, 1992; Tumbol *et al*, 2001). Geralmente os tratamentos recomendados para o uso contra infestações por *I. multifiliis* são com os agentes químicos verde de malaquita, formalina, sulfato de cobre, azul de metileno e permanganato de potássio ou combinações entre eles (Hoffman, 1978; Selosse and Roland, 1990; Tonguthai, 1997) e o sal (Selosse and Roland, 1990; Tonguthai, 1997; Tumbol *et al*, 2001; Tieman and Goodwin, 2001; Miron *et al*, 2003).

O verde de malaquita tem sido usado como ectoparasiticida em peixes cultivados desde 1936 (Foster and Woodbury, 1936; Srivastava *et al*, 2004), e usado para o controle do *I. multifiliis* no bagre de canal (Leteux and Meyer, 1972; Schachte, 1974; Tonguthai, 1997; Moore, 1998; Tiemann and Goodwin, 2001; Srivastava *et al*, 2004), e peixes ornamentais (Rodriguez and Fernandes, 2001; Srivastava *et al*, 2004), mas este agente químico ocasiona carcinogênese, mutagênese, fraturas cromossômicas, teratogênicidade e redução na fertilidade (Nelson, 1974; Bills *et al*, 1977; Schnick and Meyer, 1978; Meyer and Jorgensen, 1983; Srivastava *et al*, 2004). Além disso, é um risco em potencial para a saúde humana pelo consumo de alguns peixes tratados com verde de malaquita (Klein, 1991; Srivastava *et al*, 2004), pois resíduos deste agente químico permanecem nos tecidos (Poe and Wilson, 1983; Srivastava *et al*, 2004). Em outro estudo, com enguia (*Anguilla anguilla*), não foram detectados resíduos de verde de malaquita ou leuco-verde de malaquita (0,15 mg/l) em um período de 11 meses (Bregwerf *et al.*, 2004).

Neste trabalho foi utilizado o sal comum iodado (NaCl) por se tratar de uma substância de fácil acesso aos produtores (para tratamento em pequenos reservatórios), por não representar nenhum risco a saúde humana (quando manuseado) e por ser essencial ao desenvolvimento dos peixes, sem ocasionar danos ao mesmo.

A utilização de sal na água diminui a perda de íons corporais Na^+ e K^+ dos peixes para o meio, mantendo próximos os níveis destes íons aos do início do experimento, indicando que a utilização desta substância auxilia na manutenção iônica corporal.

O uso do sal comum na dieta, além de ser barato e de fácil controle, evitaria a utilização dos agentes químicos, os quais muitas vezes são prejudiciais ao homem e ao peixe, afetando a sua integridade física, ocasionando danos aos tecidos e teratogênicidade (Nelson, 1974; Seloosse and Roland, 1990; Srivastava *et al*, 2004).

Este estudo demonstrou que o tratamento com 1,0 % de sal na dieta melhora o crescimento (aumenta significativamente o peso e a biomassa) de juvenis de jundiá infestados com ictio em relação ao tratamento com 6 % de sal na ração em um período de 30 dias, mas não influencia a mortalidade quando a utilização da ração ocorre no início do aparecimento dos sintomas (pontos brancos e natação sem equilíbrio). Assim sendo o melhor tratamento, para juvenis de jundiá, parece ser ainda acrescentar 4 g/L de sal na água, pois melhora a sobrevivência quando os peixes são tratados logo após a observação dos primeiros pontos brancos.

Agradecimentos

Os autores agradecem o CNPq pelo apoio financeiro para compra de materiais e equipamentos necessários para a realização deste trabalho, bem como pela bolsa produtividade a B. Baldisserotto.

6. Referências

- Alcântara Rocha, R.C.G.; Ceccarelli, P.S.; Santos Neto, J.C.; Rodrigues, A.; Cervi, R.C.; Ribeiro, P. 1994. Eficácia de diferentes produtos químicos no controle de *Ichthyophthyrus multifiliis* Fouquet (1976), em juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (1887). Boletim Técnico do CEPTA 71: 1-8.
- Bergwerff, A. A., Kuiper, R. V., Scherpenisse, P. 2004. Persistence of residues of malachite green in juvenile eels (*Anguilla anguilla*). Aquaculture. 233: 55-63.

- Bills, T. D., Marking, L. L. and Chandler Jr., J. H. 1977. Malachite green: its toxicity to aquatic organisms, persistence and removal with activated carbon. *Investig. Fish Contr.* 75: 6.
- Boyd, C. E. 1998. Water quality for pond aquaculture. Research and Development Series, (International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Auburn University, Alabama) 3: 1-37.
- Brow, E. E. and Gratzec, J. B. 1980. Fish farming handbook: food, bait, tropicals and goldfish. AVI, Westport, Connecticut.
- Buchmann, K. and Bresciani, J. 1997. Parasitic infections in pond-reared rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in Denmark. *Diseases of Aquatic Organisms.* 28: 125-138.
- Buchmann, K., Lindenstrom, T. and Bresciani, J. 2001. Defence mechanisms against parasites in fish and the prospect for vaccines. *Acta Parasitologica.* 46: 71-81.
- Buchmann, K. and Nielsen, M. E. 1999. Chemoattraction of *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora) theronts to host molecules. *International Journal for Parasitology* 29: 1415-1423.
- Chapman, G. B. 1984. Ultrastructural aspects of the host-parasite relationship in ichthyophthiriasis. *American Microscopical Society, Inc.* 103(4): 364-375.
- Coldebella, I.J. & Radünz Neto J. 2002. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Ciência Rural* 32: 499-503.
- D'Cruz, L. M. and Wood, C. M. 1998. The influence of dietary salt and energy on the response to low pH in juvenile rainbow trout. *Physiological Zoology* 71: 642-657.
- Dickerson, H. W. and Dawe, D. L. 1995. *Ichthyophthirius multifiliis* and *Cryptocaryon irritans* (Phylum Ciliophora). In: Woo, P. (ed) *Fish Diseases and Disorders*. CAB International, Wallingford, 1: 181-227.

- Ewing, M. S. and Kocan, K. M. 1992. Invasion and development strategies of *Ichthyophthirius multifiliis*, a parasitic ciliate of fish. *Parasitology Today* 8: 204-208.
- Ewing, M. S. Black, M. C., Blazer, K. M. and Kocan, K. M. 1994. Plasma chloride and gill epithelial response of channel catfish infestation with *Ichthyophthirius multifiliis*. *Journal Aquatic Animal Health* 6: 187-196.
- Ferguson, H. W., Morrison, D., Ostland, V. E., Lumsden, J. and Byrne, P. 1992. Responses of mucus-producing cells in gill diseases of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Comparative Pathology* 106: 255-265.
- Gatlin III, D. M., MacKenzie, D. S., Craig, S. R. and Neill, W. H. 1992. Effects of dietary sodium chloride on red drum juveniles in waters of various salinities. *The Progressive Fish-Culturist* 54: 220-227.
- Gleeson, D. J., McCallum, H. I. and Owens, I. P. F. 2000. Differences in initial and acquired resistance to *Ichthyophthirius multifiliis* between populations of rainbowfish. *Journal of Fish Biology* 57: 466-475.
- Goven, B. A., Dawe, D. L. and Gratzek, J. B. 1980. Protection of channel catfish, *Ictalurus Punctatus* Rafinesque, against *IchthyophthiriusMultifiliis* Fouquet by immunization. *Journal of Fish Biology* 17: 311-316.
- Greenberg, A. E.; Taras, M. J.; Rand, M. C. 1976. Standard methods for the examination of water and wastewater. Springfield: Bru-El Graphic Inc., Illinois, 193 p.
- Handy, R. D., Eddy, F. B. and Romain, G. 1989. *In vitro* evidence for ionoregulatory role of rainbow trout mucus in acid, acid/aluminum and zinc toxicity. *Journal of Fish Biology* 35: 737-747.
- Hines, R. S. and Spira, D. T. 1973. *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet) in Mirror Carp, *Cyprinus Carpio* L .1. Course of Infection. *Journal of Fish Biology* 5: 385-392.

- Holsapple, D.R. 1990. The effects of dietary sodium chloride on red drum (*Sciaenops ocellatus*) in fresh and brackish water. Master's thesis. Texas A&M University, college Station.
- Hoffman, G. L. 1978. Ciliates of freshwater fishes. Parasitic Protozoa 2: 583-632. Academic Press, New York.
- Jobling, M. 1994. Fish Bioenergetics, 294pp. Chapman and Hall, London.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and diseases of fish cultured in the tropics. London: Taylor e Francis, 318 p.
- Klein, E., Edelhauser, M. and Lippold, R. 1991. Occurrence and determination of residues of malachite green and leucomalachite green in edible fish. In: Poster Presentation (PE31), Euro Food. Chem. VI.
- Leteux, F. and Meyer, F. P. 1972. Mixtures of malachite green and formalin for controlling *Ichthyophthirius* and other protozoan parasites of fish. Progressive Fish-Culturist 34: 21-26.
- Ling, K. H., Sin, Y. M. And Lam, T. J. 1991. A new approach to controlling ichthyophthiriasis in a closed culture system of freshwater ornamental fish. Journal Fish Diseases 20: 369-374.
- Lom, J. and Dikova, I. 1992. Protozoan parasites of fishes. Developments in aquaculture and fishery Science 26: 315 pp.
- Matthews, R. A. 1994. *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet 1876: infection and protective response within the fish host. Parasitic Diseases of Fish. Tresaith: Samara Publishing, p. 17-42.
- Meyer, F. P. and Jorgensen, T. A. 1983. Teratological and other effects of malachite green on development of rainbow trout and rabbits. Transactions of the American Fisheries Society 112: 818-824.

- Miron, D. S.; Silva, L. V. F.; Golombieski, J. I. et al. 2003. Efficacy of different salt (NaCl) concentrations in the treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* contamination of *Silver catfish*, *Rhamdia quelen*, fingerlings. *Journal of Applied Aquaculture* 14: 155-161.
- Moore, A. 1998. Management, prevention and treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* in intensive culture of Walleye and channel catfish. Dept. Nat. Res., Iowa, 36 p.
- Murray, M. W., and Andrews, J.W. 1979. Channel catfish: the absence of an effect of dietary salt on growth. *Progressive Fish-Culturist* 41: 155-156.
- Nelson, N. C. 1974. A review of literature on the use of malachite green in fisheries. US National Technical Information Service, Washington, DC, Document n° PB 235-240, 88 p.
- Nielsen, C. V. and Buchmann, K. 2000. Prolonged in vitro cultivation of *Ichthyophthirius multifiliis* using an EPC cell line as substrate. *Diseases of Aquatic Organisms* 42: 215-219.
- Nigrelli, R. F., Pokorny, K. S. and Ruggieri, G. D. 1976. Notes on *Ichthyophthirius multifiliis*, a ciliate parasitic on freshwater fishes, with some remarks on possible physiological races and species. *Transactions of the American Microscopical Society* 95: 607-613.
- Piper, G. R., Mcelwain, I. B., Orme, L. E., McCraren, J. P., Fowler, L. G. and Leonard, J. R. 1982. Fish hatchery management. Washington: United States Department of the Interior Fish and Wildlife Service, 517 p.
- Poe, W. E. and Wilson, R. P. 1983. Absorption of malachite green by channel catfish. *Progressive Fish-Culturist* 45: 228-229.
- Post, G. W. 1987. Textbook of fish health. Ed. Rev. Neptune City. T.F.H. Publications, 288 p.
- Pyle, G. G., Kamunde, C. N. McDonald, D. G. and Wood, C. M. 2003. Dietary sodium inhibits aqueous copper uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The Journal of Experimental Biology* 206: 609-618.

- Rodriguez, J. L. T. and Fernandez, M. T. S. 2001. Attempts at oral pharmacological treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 24: 249-252.
- Salman, N. A., and Eddy, F. B. 1988. Effect of dietary sodium chloride on growth, food intake and conversion efficiency in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Aquaculture* 70: 131-144.
- Selosse, P. M.; Rowland, S. J. 1990. Use of common salt treat ichthyophthiriasis in Australian warmwater fishes. *The Progressive Fish Culturist* 52: 124-127.
- Schachte, J. H. 1974. Short-term treatment of malachite green and formalin for control of *Ichthyophthirius Multifiliis* on channel catfish in holding tanks. *Progressive Fish-Culturist* 36: 103-104.
- Scholz, T. 1999. Parasites in cultured and feral fish. *Veterinary Parasitology* 84: 317-335.
- Smith, N. F., Talbot, C. & Eddy, F. B. 1989. Dietary salt intake and its relevance to ionic regulation in freshwater salmonids. *Journal of Fish Biology* 35: 749-753.
- Smith, N., Eddy, F. & Talbot, C. 1995. Effect of dietary salt load on transepithelial Na⁺ exchange in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.* 198: 2359-64.
- Srivastava, S., Sinha, R. and Roy, D. 2004. Toxicological effects of malachite green. *Aquatic Toxicology* 66: 319-329.
- Tieman, D. M. and Goodwin, A. E. (2001). Treatments for ich infestations in channel catfish evaluated under static and flow-through water conditions. *North American Journal of Aquaculture* 63: 293-299.
- Tonguthai, K. 1997. Control of freshwater fish parasites: a southeast asian perspective. *International Journal for Parasitology* 27(10): 1185-1191.

- Traxler, G. S., Richard, J. and McDonald, T. E. 1998. *Ichthyophthirius multifiliis* (Ich)epizootics in spawning sockeye salmon in British Columbia, Canada. *Journal of Aquatic Animal Health* 10: 143-151.
- Tumbol, R. A., Powell, M. D. and Nowak, B. F. 2001. Ionic effects of infection of *Ichthyophthirius multifiliis* in goldfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 13: 20-26.
- Van Duijn, C. 1956. Diseases of fishes. London : Water Life, 174 p.
- Ventura, M. T. and Paperna, I. 1985. Histopathology of *Ichthyophthirius multifiliis* infections in fishes. *Journal of Fish Biology* 27: 185-203.
- Wurtsbaugh, W. A. and Tapia, R. A. 1988. Mass mortality of fishes in lake Titicaca (Peru, Bolivia) associated with the protozoan parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Transactions of the American Fisheries Society* 117: 213-217.
- Xu, D. H., Klesius, P. H. and Shoemaker, C. A. 2001. Effect of lectins on the invasion of *Ichthyophthirius* theront to channel catfish tissue. *Diseases of Aquatic Organisms* 45: 115-120.
- Zall, D. M., Fisher, M. D. and Garner, Q. M. 1956. Photometric determination of chlorides in water. *Analytical Chemistry* 28: 1665-1678.

Tabela 1 – Composição da ração (%) usada na alimentação dos juvenis de jundiá durante o período experimental.

Composição (%)	NaCl na ração (%)				
	0	1	2	4	6
Levedura de cana	33,90	33,90	33,90	33,90	33,90
Farelo de soja	33,90	33,90	33,90	33,90	33,90
Milho triturado (grãos)	11,45	11,45	11,45	11,45	11,45
Óleo de canola	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Farelo de trigo	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Premix vitamínico ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix mineral ²	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Celulose	6,0	5,0	4,0	2,0	0,0
	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

¹Conteúdo (kg): Vit. A: 6.000.000 UI; Vit. D: 1.000.000 UI; Vit. E: 100.000 UI; Vit. K: 5.000 UI; riboflavina: 10.000 mg; ácido pantotênico: 30.000 mg; niacina: 60.000 mg; Vit. B12: 20.000 mcg; biotina: 600 mcg; ácido fólico: 2.500 mcg; tiamina: 10.000 mg; piridoxina: 20.000 mg.

²Conteúdo (kg): Cu: 12.001 mg; Fe: 75.000 mg; Mn: 99.974 mg; I: 998 mg; Se: 250 mg; Zi: 90.001 mg.

Tabela 2 – Taxa de mortalidade (%) de juvenis de jundiá alimentados com ração suplementada com diferentes níveis de sal (NaCl) e com sal adicionado a água (4 g/l) e infestados com o protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*.

Tempo (dias)	NaCl na ração (%)					Sal na água
	0	1	2	4	6	4 g/l
10	24±2,3 ^A	19±1,3 ^A	20±2,2 ^A	19±4,0 ^A	23±1,9 ^A	3,4±0,04 ^B
20	27±2,6 ^A	22±1,5 ^A	22±2,4 ^A	22±4,4 ^A	26±2,1 ^A	3,7±0,05 ^B
30	30±2,9 ^A	24±1,7 ^A	25±2,8 ^A	25±5,0 ^A	29±2,4 ^A	4,3±0,06 ^B

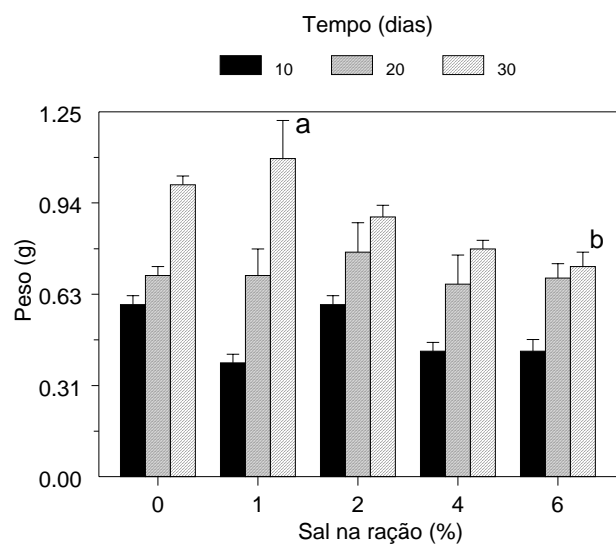
Valores expressos como média \pm erro padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, não havendo diferença significativa entre os tempos testados.

Tabela 3 – Arquivo em anexo no CD.

Tabela 4 – Arquivo em anexo no CD.

Tabela 5 – Arquivo em anexo no CD.

(A)



(B)

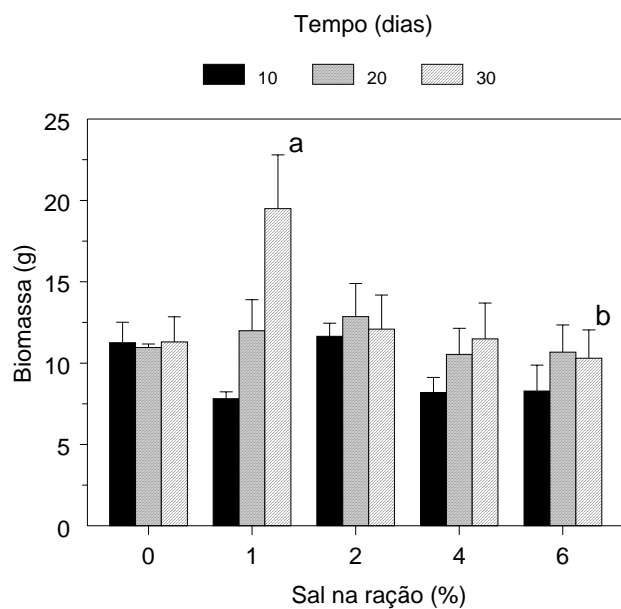
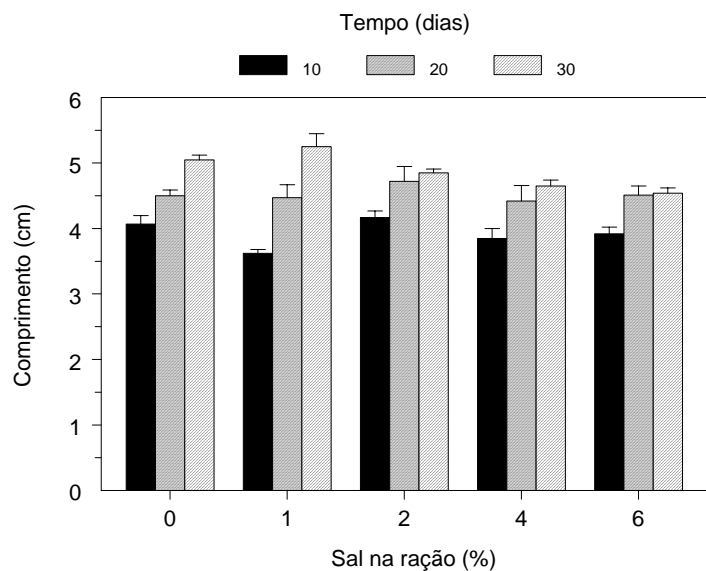


Figura 1 – Efeito de diferentes níveis de NaCl na ração no peso (A) e na biomassa (B) de juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* infestados com o protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos no mesmo intervalo de tempo ($P < 0,05$). Não houve diferenças significativas entre os tratamentos nos intervalos de tempo de 10 e 20 dias.

(A)



(B)

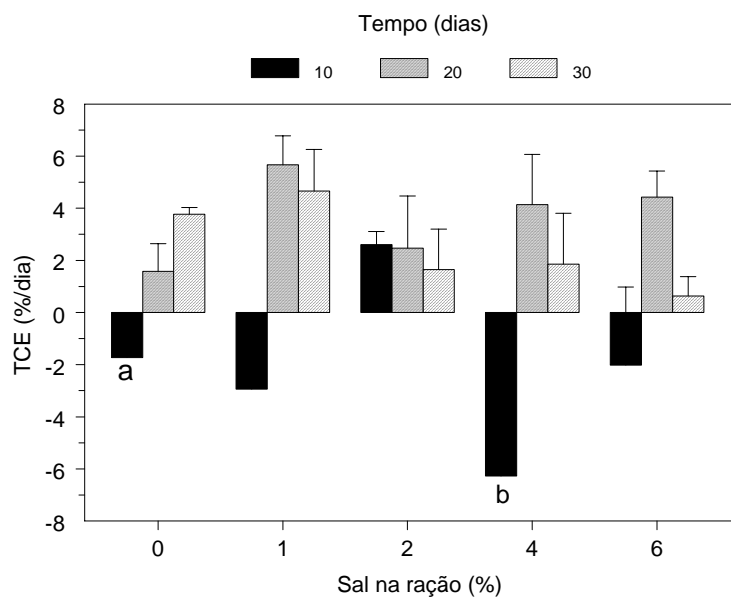
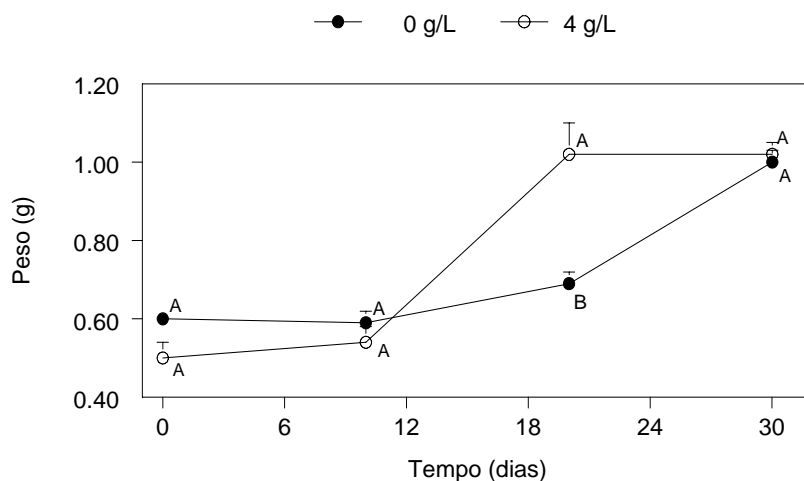


Figura 2 - Efeito de diferentes níveis de NaCl na ração em relação ao comprimento (A) e a taxa de crescimento específico (B) de juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* infestados com o protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*.

(A) Não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

(B) Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos no mesmo intervalo de tempo ($P < 0,05$). Não houve diferenças significativas entre os tratamentos nos intervalos de tempo de 20 e 30 dias.

(A)



(B)

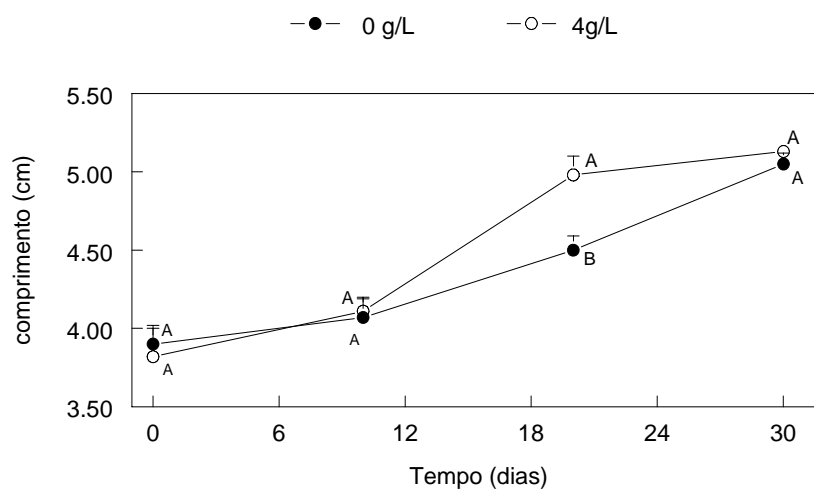
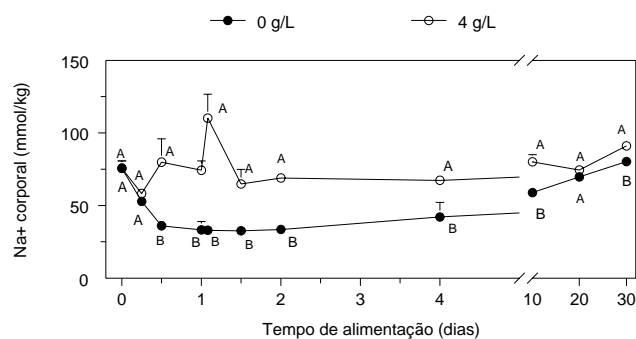


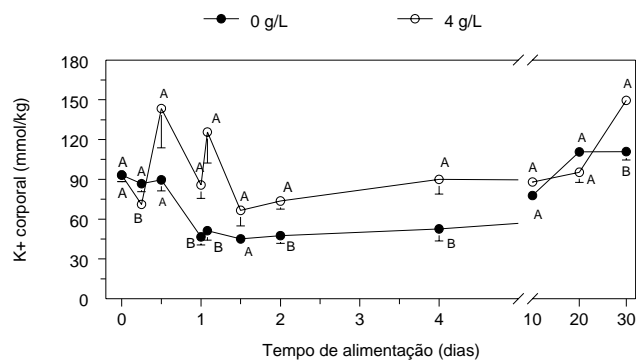
Figura 3 – (A) Peso (g) e (B) comprimento (cm) de juvenis de jundiás *Rhamdia quelen* infestados com o protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis* em diferentes intervalos de tempo nos tratamentos sem adição de sal na ração e na água e 4 g/L sal na água.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos no mesmo intervalo de tempo ($P < 0,05$).

(A)



(B)



(C)

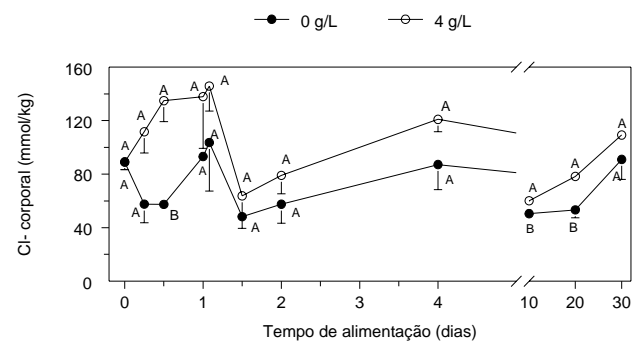


Figura 4 - Níveis corporais de Na⁺ (A), K⁺ (B) e Cl⁻ (C) em juvenis de jundiás *Rhamdia quelen* infestados com o protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis* em diferentes intervalos de tempo nos tratamentos sem adição de sal na ração e na água e 4 g/L sal na água. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos no mesmo intervalo de tempo (P < 0,05).

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O presente trabalho vem a contribuir, na busca por novas alternativas nutricionais, para controlar um dos agentes patogênicos mais importantes da aquicultura dulcíaquícola do mundo, que é o protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*. Este trabalho utilizou diferentes níveis de sal comum (NaCl) na ração, visando um controle do parasita e também verificar qual o comportamento dos níveis corporais dos íons Na^+ , K^+ e Cl^- dos peixes.

Nosso estudo, permite então concluir que:

- O melhor nível de adição de sal na ração para juvenis de jundiá infestados com o protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis* é de 1,0 % (31 mmol/kg de Na^+ e 145 mmol/kg de Cl^-), pois apresentam os melhores resultados para o crescimento em peso, e biomassa em relação ao tratamento com 6 % de sal na ração em um período de 30 dias;

- Os níveis corporais dos íons Na^+ , K^+ e Cl^- dos juvenis de jundiá infestados com o parasita inicialmente sofrem uma diminuição seguida de uma oscilação, e estes níveis são restabelecidos após o desaparecimento dos pontos brancos;

- Os níveis de sal na ração não interferem na diminuição da mortalidade dos juvenis de jundiá infestados com o parasita, não havendo um controle efetivo do parasita;

- O sal comum adicionado na água (4 g/L) é a melhor maneira de se tratar o “ich”, pois melhora a sobrevivência dos peixes quando são tratados logo após o aparecimento dos pontos brancos.

BIBLIOGRAFIA GERAL

- ALCÂNTARA ROCHA, R.C.G.; CECCARELLI, P.S.; SANTOS NETO, J.C.; *et al.* Eficácia de diferentes produtos químicos no controle de *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet (1976), em juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (1887). **Boletim Técnico do CEPTA**, v.7, p. 1-8. 1994.
- BARCELLOS, L. J. G., WOEHL, V. M., WASSERMANN, G. F., *et al.* Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. **Aquaculture Research**. 32, 121-123. 2001.
- BARCELLOS, L. J. G., KREUTZ, L. C., QUEVEDO, R. M., *et al.* Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**. 232, 383-394. 2004.
- BERGWERFF, A. A., KUIPER, R. V., SCHERPENISSE, P. Persistence of residues of malachite green in juvenile eels (*Anguilla anguilla*). **Aquaculture**. 233, 55-63. 2004.
- BILLS, T. D., MARKING, L. L., CHANDLER JR., J. H. Malachite green: its toxicity to aquatic organisms, persistence and removal with activated carbon. *Investig. Fish Contr.* 75: 6. 1977.
- BOYD, C. E. **Water quality for pond aquaculture. Research and Development Series**, (International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Auburn University, Alabama) 3: 1-37. 1998.
- BRANDÃO, D. A. **Profilaxia e Doenças. In: Baldisserotto & Radünz Neto. Criação de jundiá.** Ed. UFSM, 232 p., il. Santa Maria, 2004.
- BROW, E. E. & GRATZEC, J. B. **Fish farming handbook: food, bait, tropicals and goldfish.** AVI, Westport, Connecticut. 1980.
- BUCHMANN, K. & BRESCIANI, J. Parasitic infections in pond-reared rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in Denmark. **Diseases of Aquatic Organisms**. 28: 125-138. 1997.
- BUCHMANN, K., LINDENSTROM, T. AND BRESCIANI, J. Defence mechanisms against parasites in fish and the prospect for vaccines. **Acta Parasitologica**. 46: 71-81. 2001.
- BUCHMANN, K. & NIELSEN, M. E. Chemoattraction of *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora) theronts to host molecules. **International Journal for Parasitology** 29: 1415-1423. 1999.

- CHAPMAN, G. B.. Ultrastructural aspects of the host-parasite relationship in ichthyophthiriasis. **American Microscopical Society, Inc.**, v. 103, nº 4, p. 364-375. 1984.
- COLDEBELLA, I.J. & RADÜNZ NETO J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural** 32: 499–503. 2002.
- D'CRUZ, L. M. & WOOD, C. M. The influence of dietary salt and energy on the response to low pH in juvenile rainbow trout. **Physiological Zoology**, v. 71, p. 642-657. 1998.
- DICKERSON, H. W. & DAWE, D. L. *Ichthyophthirius multifiliis* and *Cryptocaryon irritans* (Phylum Ciliophora). In: Woo, P. (ed) **Fish Diseases and Disorders**. CAB International, Wallingford, 1: 181-227. 1995.
- EMATER (RS). Diagnóstico do Setor Pesqueiro do Rio Grande do Sul. **Série Realidade Rural**. Porto Alegre, v. 5, 1995.
- EVANS, D. H. **Osmotic and ionic regulation**. In: **EVANS, D. H.**, ed. The Physiology of fish. CRC, Boca Raton, Fla. 1993.
- EWING, M. S. & KOCAN, K. M. Invasion and development strategies of *Ichthyophthirius multifiliis*, a parasitic ciliate of fish. **Parasitology Today** 8: 204-208. 1992.
- EWING, M. S. BLACK, M. C., BLAZER, K. M. *et al.* Plasma chloride and gill epithelial response of channel catfish infestation with *Ichthyophthirius multifiliis*. **Journal Aquatic Animal Health** 6: 187-196. 1994.
- FERGUSON, H. W., MORRISON, D., OSTLAND, V. E., *et al.* Responses of mucus-producing cells in gill diseases of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Comparative Pathology** 106: 255-265. 1992.
- GATLIN III, D. M., MACKENZIE, D. S., CRAIG, S. R., *et al.* Effects of dietary sodium chloride on red drum juveniles in waters of various salinities. **The Progressive Fish-Culturist**, 54: 220-227. 1992.
- GLEESON, D. J., MCCALLUM, H. I., OWENS, I. P. F. Differences in initial and acquired resistance to *Ichthyophthirius multifiliis* between populations of rainbowfish. **Journal of Fish Biology** 57: 466-475. 2000.
- GOVEN, B. A., DAWE, D. L., GRATZEK, J. B. Protection of channel catfish, *Ictalurus-Punctatus* Rafinesque, against *IchthyophthiriusMultifiliis* Fouquet by immunization. **Journal of Fish Biology** 17: 311-316. 1980.

- GREENBERG, A. E.; TARAS, M. J.; RAND, M. C. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Springfield: Bru-El Graphic Inc., Illinois, 193 p. 1976.
- HANDY, R. D., EDDY, F. B.; ROMAIN, G. *In vitro* evidence for ionoregulatory role of rainbow trout mucus in acid, acid/aluminum and zinc toxicity. **Journal of Fish Biology** 35: 737-747. 1989.
- HINES, R. S. & SPIRA, D. T. *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet) in Mirror Carp, *Cyprinus Carpio* L. 1. Course of Infection. **Journal of Fish Biology**, 5: 385-392. 1973.
- HOLSAPLE, D.R. **The effects of dietary sodium chloride on red drum (*Sciaenops ocellatus*) in fresh and brackish water**. Master's thesis. Texas A&M University, college Station. 1990.
- HOFFMAN, G. L. **Ciliates of freshwater fishes. Parasitic Protozoa** Academic Press, New York 2: 583-632. 1978.
- JOBLING, M. **Fish Bioenergetics**. Chapman and Hall, London. 294 p. 1994.
- HOFFMAN, G. L. & BAUER, O. N. Fish parasitology in water reservoirs: review. In Reservoir Fisheries and Limnology. **American Fisheries Society**. Washington D. C. p. 459-451. 1971.
- IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). Estatística da pesca – grandes regiões e unidades da federação. **Parecer técnico**. Brasil, 2000.
- KABATA, Z. **Parasites and diseases of fish cultured in the tropics**. London: Taylor e Francis, 318 p. 1985.
- KLEIN, E., EDELHAUSER, M.; LIPPOLD, R. Occurrence and determination of residues of malachite green and leucomalachite green in edible fish. In: Poster Presentation (PE31), Euro Food. Chem. VI. 1991.
- KUBITZA, F. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. Campo Grande, MS. 65 p. 1998.
- LETEUX, F. & MEYER, F. P. Mixtures of malachite green and formalin for controlling *Ichthyophthirius* and other protozoan parasites of fish. **Progressive Fish-Culturist** 34: 21-26. 1972.
- LING, K. H., SIN, Y. M.; LAM, T. J. A new approach to controlling ichthyophthiriasis in a closed culture system of freshwater ornamental fish. **Journal Fish Diseases** 20: 369-374. 1991
- LOM, J. & DIKOVA, I. Protozoan parasites of fishes. **Developments in aquaculture an fishers Science** 26: 315 p. 1992.
- MATTHEWS, R. A. *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet 1876: infection and protective response within the fish host. **Parasitic Diseases of Fish**. Tresaith: Samara Publishing, p. 17-42. 1994.

- McCARTNEY, J. B., FORTNER, G. W.; HANSEN, M. F. Scanning electron microscopic studies of the life cycle of *Ichthyophthirius multifiliis*. **Journal for Parasitology**, 71: 218-226. 1985.
- MEYER, F. P. & JORGENSEN, T. A. Teratological and other effects of malachite green on development of rainbow trout and rabbits. **Transactions of the American Fisheries Society** 112: 818-824. 1983.
- MIRON, D. S.; SILVA, L. V. F.; GOLOMBIESKI, J. I. *et al.* Efficacy of different salt (NaCl) concentrations in the treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* contamination of *Silver catfish*, *Rhamdia quelen*, fingerlings. **Journal of Applied Aquaculture**. 14: 155-161. 2003.
- MOORE, A. **Management, prevention and treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* in intensive culture of Walleye and channel catfish**. Dept. Nat. Res., Iowa, 36 p. 1998.
- MURRAY, M. W., & ANDREWS, J.W. Channel catfish: the absence of an effect of dietary salt on growth. **Progressive Fish-Culturist** 41: 155-156. 1979.
- NELSON, N. C. **A review of literature on the use of malachite green in fisheries**. US National Technical Information Service, Washington, DC, Document nº PB 235-240, 88 p. 1974.
- NIELSEN, C. V. & BUCHMANN, K. Prolonged in vitro cultivation of *Ichthyophthirius multifiliis* using an EPC cell line as substrate. **Diseases of Aquatic Organisms** 42: 215-219. 2000.
- NIGRELLI, R. F., POKORNY, K. S.; RUGGIERI, G. D. Notes on *Ichthyophthirius-Multifiliis*, a Ciliate Parasitic on Freshwater Fishes, with Some Remarks on Possible Physiological Races and Species. **Transactions of the American Microscopical Society**, 95: 607-613. 1976.
- PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R.M. **Doença de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá. EDUEM : Nupelia, 264 p. 1998.
- PIPER, G. R.; MCELWAIN, I. B.; ORME, L. E.; *et al.* **Fish hatchery management**. Washington: United States Department of the Interior Fish and Wildlife Service, 517 p. 1982.
- POE, W. E. & WILSON, R. P. Absorption of malachite green by channel catfish. **Progressive Fish-Culturist** 45: 228-229. 1983.
- POST, G. W. Textbook of fish health. Ed. Rev. Neptune City. T.F.H. Publications, 1987. 288 p.
- PRIETO, A. FAJER E. VINJOY, M. **Manual para la prevencion e el tratamiento de enfermedades en peces de cultivo en agua dulce**. Santiago: FAO, 65 p. 1991.

- PYLE, G. G.; KAMUNDE, C. N.; MCDONALD, D. G.; *et al.* Dietary sodium inhibits aqueous copper uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **The Journal of Experimental Biology** 206: 609-618. 2003.
- RADÜNZ NETO, J. **Desenvolvimento de técnicas de reprodução e manejo de larvas de jundiá *Rhamdia quelen***. Santa Maria, 1981. 77p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 1981.
- RADÜNZ NETO, J. **Manejo alimentar nutrição**. In: **Baldisserotto & Radünz Neto. Criação de jundiá**. Ed. UFSM, Santa Maria, 2004. 232 p., il.
- RODRIGUEZ, J. L. T. & FERNANDEZ, M. T. S. Attempts at oral pharmacological treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Journal of Fish Diseases** 24: 249-252. 2001.
- SALMAN, N. A. & EDDY, F. B. Response of chloride cells and gill Na⁺/K⁺ ATPase to salt feeding in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). **Aquaculture**, 61: 41-48. 1987.
- SALMAN, N. A. & EDDY, F. B. Effect of dietary sodium chloride on growth, food intake and conversion efficiency in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). **Aquaculture**, 70: 131-144. 1988.
- SCHACHTE, J. H. Short-term treatment of malachite green and formalin for control of *Ichthyophthirius Multifiliis* on channel catfish in holding tanks. **Progressive Fish-Culturist** 36: 103-104. 1974.
- SCHOLZ, T. Parasites in cultured and feral fish. **Veterinary Parasitology**, 84: 317-335. 1999.
- SELOSSE, P. M. & ROWLAND, S. J. Use of common salt treat ichthyophthiriasis in Australian warmwater fishes. **The Progressive Fish Culturist**, 52: 124-127. 1990.
- SILFVERGRIP, A. A. M. C. **A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE)**. Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History. Stockholm, 1996. 156 p.
- SMITH, N. F., TALBOT, C.; EDDY, F. B. Dietary salt intake and its relevance to ionic regulation in freshwater salmonids. **Journal of Fish Biology**, 35: 749-753. 1989.
- SMITH, N., EDDY, F.; TALBOT, C. Effect of dietary salt load on transepithelial Na⁺ exchange in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Biol.**, 198: 2359-64. 1995.

- SRIVASTAVA, S., SINHA, R.; ROY, D. Toxicological effects of malachite green. **Aquatic Toxicology**, 66: 319-329. 2004.
- TIEMAN, D. M. & GOODWIN, A. E. Treatments for ich infestations in channel catfish evaluated under static and flow-through water conditions. **North American Journal of Aquaculture** 63: 293-299. 2001.
- TRAXLER, G. S.; RICHARD, J.; MCDONALD, T. E. *Ichthyophthirius multifiliis* (Ich) epizootics in spawning sockeye salmon in British Columbia, Canada. **Journal of Aquatic Animal Health** 10: 143-151. 1998.
- TUMBOL, R. A.; POWELL, M. D.; NOWAK, B. F. Ionic effects of infection of *Ichthyophthirius multifiliis* in goldfish. **Journal of Aquatic Animal Health** 13: 20-26. 2001.
- TONGUTHAI, K. Control of freshwater fish parasites: A Southeast asian perspective. **International Journal for Parasitology**, 27(10): 1185-1191. 1997.
- VAN DUIJN, C.. **Diseases of fishes**. London : Water Life, 1956. 174 p.
- VENTURA, M. T. & PAPERNA, I. Histopathology of *Ichthyophthirius multifiliis* infections in fishes. **Journal of Fish Biology** 27: 185-203. 1985.
- WURTSBAUGH, W. A. & TAPIA, R. A. Mass mortality of fishes in lake Titicaca (Peru, Bolivia) associated with the protozoan parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. **Transactions of the American Fisheries Society** 117: 213-217. 1988.
- XU, D. H.; KLESIOUS, P. H.; SHOEMAKER, C. A. Effect of lectins on the invasion of *Ichthyophthirius theront* to channel catfish tissue. **Diseases of Aquatic Organisms**, 45: 115-120. 2001.
- ZALL, D. M.; FISHER, M. D.; GARNER, Q. M. Photometric determination of chlorides in water. **Analytical Chemistry**, 28: 1665-1678. 1956.