

MONITORAMENTO DO STATUS SANITÁRIO DA OSTRA NATIVA *Crassostrea gasar* (BIVALVIA: OSTREIDAE) DO ESTUÁRIO DO RIO JAGUARIBE, CEARÁ

RACHEL COSTA SABRY, LUIZ CAYKY DA SILVA LOPES,
ALDEVAN DE LIMA SILVA, MAXIMIANO PINHEIRO DANTAS NETO

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), campus de Aracati

<rachelsabry@yahoo.com.br>, <cayky_951@hotmail.com>
<aldevanlima94@gmail.com>, <maxfloyd@hotmail.com>

DOI: 10.21439/conexoes.v11i6.1136

Resumo. No estuário do Rio Jaguaribe, Ceará, a ostra *Crassostrea gasar* é um importante recurso pesqueiro sendo comumente coletado pela comunidade para alimentação e também para o comércio local. Apesar da importância que esse bivalve representa para comunidade, na região, são poucas as pesquisas sobre a ocorrência de patógenos causadores de doenças, nesses animais. O objetivo desse trabalho foi investigar a ocorrência de parasitas em *C. gasar* do estuário do Rio Jaguaribe, Ceará. As coletas das ostras (N=600) foram realizadas no período de agosto de 2014 a março de 2016. Durante as coletas a temperatura e a salinidade da água foram monitoradas. Todos os moluscos foram submetidos à técnica de cultivo de tecidos em meio fluido de tioglicolato (RFTM) específica para o protozoário do gênero *Perkinsus*, histologia e PCR. A salinidade da água variou de 18‰ a 40‰ e a temperatura de 27 a 33°C. O tamanho médio das ostras no período variou de 76,69 mm±10,76 a 103,97mm±30,12. As análises macroscópicas mostraram a presença de poliquetas pertencentes ao gênero *Polydora*. Os ensaios de RFTM detectaram *Perkinsus* sp. infectando as ostras investigadas com prevalência de até 33,3%. As análises histológicas evidenciaram vírus (6,7%), bactérias (até 65,5%), os protozoários *Nematopsis* sp. e *Ancistrocoma* sp. com prevalências de 80% e 20%, respectivamente e o metazoário *Urustoma* sp. (13,3%). Os resultados da PCR foram positivos em apenas 3 animais dos 95 positivos no RFTM. Até o momento, nenhum dos patógenos encontrados parece representar risco potencial às ostras desse banco natural.

Palavras-chaves: Histopatologia, Patógeno, *Perkinsus*.

Abstract. In the Jaguaribe River estuary, Ceará State, the oyster *Crassostrea gasar* is an important fishing resource commonly collected by the local community for feeding and market. Despite the importance of this bivalve for the community in the region, there are few researches about the occurrence of disease-causing pathogens in these animals. The aim of this study was to investigate the occurrence of parasites in *C. gasar* from the Jaguaribe River estuary, Ceará. The oysters collections (N = 600) were carried out from August 2014 to March 2016. During the samplings, the water temperature and salinity were monitored. All mollusks were submitted to the tissue cultivation technique in fluid thioglycollate medium (RFTM), specific for the protozoan of genus *Perkinsus*, histology and PCR. The salinity of the water ranged from 18‰ to 40‰ and the temperature from 27°C to 33°C. The average size of the oysters in the sampling period ranged from 76.69mm ± 10.76 to 103.97mm ± 30.12. Macroscopic analyzes showed the presence of polychaetes belonging to genus *Polydora*. The RFTM assays detected *Perkinsus* sp. infecting the investigated oysters with prevalences up to 33.3%. Histological analyzes evinced virus (6.7%), bacteria (up to 65.5%), the protozoa *Nematopsis* sp. and *Ancistrocoma* sp., with prevalence of 80% and 20% respectively, and the metazoan *Urustoma* sp. (13.3%). The PCR results were positive in only 3 of 95 animals positive in RFTM. So far, none of the found pathogens seems to represent potential risk for the oysters from this natural bank.

Keywords: Histopathology, Pathogen, *Perkinsus*.

1 INTRODUÇÃO

Estudos sobre os parasitas e patógenos que afetam os moluscos bivalves de interesse econômico são importantes. Entre os principais agentes causadores de enfermidades estão os vírus, bactérias, fungos, protozoários, metazoários (LAUCKNER,

1983).

No Brasil, o estuário do Rio Jaguaribe, localizado no litoral leste do Estado do Ceará, possui uma fauna bastante diversificada, incluindo ostras (*Crassostrea rhizophorae*; *C. gasar* = *C. brasiliensis*), mexilhões (*Mytella falcata*; *M. guyanensis*) e o bú-

zão (*Anomalocardia brasiliensis*), os quais representam importância ecológica e socioeconômica, pois servem como fonte de alimento e comercialização, para as famílias que vivem no entorno desse estuário. Apesar da importância que os moluscos representam ainda são poucos os estudos sobre as doenças que os afetam. Somente nos últimos anos, com a intensificação dos cultivos, as pesquisas têm sido intensificadas em várias regiões do país.

A hipertrofia gametocítica viral foi observada em *Crassostrea rhizophorae* e na ostra japonesa *Crassostrea gigas* cultivada em Santa Catarina - SC (PONTINHA, 2009; SABRY et al., 2011). Bactérias do tipo rickettsia foram detectadas em *C. gigas* de cultivo e em *C. rhizophorae* de bancos naturais em SC (SILVA; MAGALHÃES; BARRACCO, 2012) e em *Mytella guyanensis* do estuário do Rio Cacho-eira, BA (BOEHS et al., 2010). Uma enfermidade causada por fungo foi detectada em *C. rhizophorae* e *C. gigas*, ambas, provenientes de cultivos em Santa Catarina (SABRY; MAGALHÃES, 2005).

Nos últimos anos, o protozoário *Nematopsis* sp. têm sido detectado em ostras, mexilhões e outros moluscos, de diferentes estuários da costa brasileira sempre em elevadas prevalências, porém sem causar danos aparentes aos tecidos infectados (PINTO; BOEHS, 2008; BOEHS et al., 2010; SILVA; MAGALHÃES; BARRACCO, 2012). Outro protozoário, *Trichodina* sp. foi identificado pela primeira vez na ostra japonesa *C. gigas* cultivada em Florianópolis - SC (SABRY; MAGALHÃES, 2005) e posteriormente em outros bivalves estuarinos. Entre os metazoários, *Bucephalus* sp. e *Tylocephalum* sp. foram detectados em moluscos bivalves silvestres e de cultivo (NASCIMENTO et al., 1986; LIMA; ABREU; MESQUITA, 2001; SILVA; MAGALHÃES; BARRACCO, 2012; ARAÚJO; ROCHA-BARREIRA, 2004; SABRY; MAGALHÃES, 2005; SABRY et al., 2006; BOEHS et al., 2010).

Até pouco tempo não havia relato de patógenos de declaração obrigatória infectando moluscos da costa brasileira, porém em 2009 foi feito o primeiro registro de um protozoário do gênero *Perkinsus* infectando a ostra *C. rhizophorae* no estuário do Rio Pacoti, Ceará (SABRY et al., 2009). A partir daí, as pesquisas foram intensificadas em várias regiões do país, tendo em vista o risco potencial que este protozoário pode causar às populações de moluscos (SABRY et al., 2013; DA SILVA et al., 2013; BRANDÃO et al., 2013; QUEIROGA et al., 2015; FERREIRA et al., 2015; DANTAS-NETO

et al., 2015). Estes relatos são relevantes para os avanços na patologia de moluscos no Brasil. No entanto, ainda são poucos os moluscos investigados quanto à presença da perkinsiose e de outros patógenos com potencial risco para as populações de bancos naturais.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostragem dos animais

Exemplares de *Crassostrea gasar* (N=600) foram coletados no estuário do Rio Jaguaribe, litoral leste do Estado do Ceará, no município de Fortim. As ostras foram coletadas no período de agosto de 2014 a março de 2016, na maré baixa em costões rochosos no infralitoral, sendo coletados 30 animais/mês. Durante as coletas foram verificadas as variáveis temperatura e salinidade da água do local.

2.2 Biometria e análises macroscópicas

No laboratório as ostras foram medidas com auxílio de paquímetro em seu maior eixo e em seguida abertas para análises macroscópicas, visando detectar parasitismo por *Polydora* sp. e alterações nos tecidos. Os animais de cada coleta tiveram tecidos preparados e processados para as técnicas: cultivo em meio líquido de tioglicolato de Ray - RFTM, técnica específica para detecção do protozoário *Perkinsus* sp.; histologia e PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).

2.3 Cultivo em RFTM

Para o cultivo em RFTM, duas demibrânquias e o reto de cada ostra foram retirados com auxílio de um bisturi e posteriormente colocados individualmente em tubos eppendorf estéreis contendo 1ml de meio fluido de tioglicolato, acrescido de 100µl de Penicilina/estreptomicina (antibiótico) e 100µl de Nistatina (antifúngico). Os tecidos ficaram incubados por um período de 7 dias no escuro e a temperatura ambiente, visando induzir o aumento das células do protozoário *Perkinsus* caso as mesmas estivessem presentes. Após o período de incubação os fragmentos dos tecidos foram macerados sobre uma lâmina e corados com solução de lugol a 3% de acordo com o método descrito por Ray (1954). Para o diagnóstico de *Perkinsus*, o material foi observado ao microscópio de luz. A prevalência de *Perkinsus* sp. foi calculada sobre o

número de animais encontrados parasitados após incubação em RFTM e a intensidade de infecção foi feita utilizando-se a escala descrita por Mackie (RAY, 1954) e modificada por (SABRY et al., 2009).

2.4 Histologia

Para o estudo histopatológico uma secção transversal de cada ostra (N=600) foi retirada de forma a amostrar: brânquias, gônada e glândula digestiva. Em seguida os tecidos foram fixados em Solução de Davidson por 24 h, segundo o protocolo estabelecido por Shaw e Battle (1997). Decorrido esse tempo os tecidos foram lavados em água corrente, desidratados em uma série gradativa de álcool até 100%, diafanizados em xilol e impregnados em parafina histológica a 60°C. Cortes de 5 µm foram realizados e corados com hematoxilina de Harris e Eosina (HOWARD et al., 2004) para análise ao microscópio de luz. A prevalência dos parasitas encontrados nas ostras de cada coleta foi calculada de acordo com (BUSH et al., 1997).

2.5 Extração de DNA e ensaios de PCR

Todos os animais (N=600) tiveram tecidos de brânquias separados e conservados em álcool 95% visando a extração de DNA. Os animais submetidos a esta técnica foram apenas os positivos na técnica de RFTM. A extração do DNA foi realizada com reagente DNAzol ® (Invitrogen) seguindo o protocolo do fabricante, enquanto para os testes de PCR foram usados os primers PerkITS 85/750 que são exclusivos para membros do gênero *Perkinsus* (CASAS; VILLALBA; REECE, 2002). O DNA extraído a partir de células de *Perkinsus beihaiensis* foi utilizado como controle positivo. Para o controle negativo, o DNA foi substituído por água isenta de nuclease. Cada reação de 25 µL continha 50-100ng de DNA molde, 1x tampão de PCR, 1.5mM MgCl₂, 0,2mM de cada dNTP, 0,8mM de cada primer e 1 unidade de Taq DNA polimerase (Invitrogen). O protocolo incluiu uma desnaturação de DNA a 94°C durante 10 min, e 35 ciclos de amplificação a 94°C (1 min), 55°C (1 min) e 72°C (1 min), seguido por uma extensão final a 72°C durante 10 min. Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose TAE 1,5% e corados com *Blue Juice*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

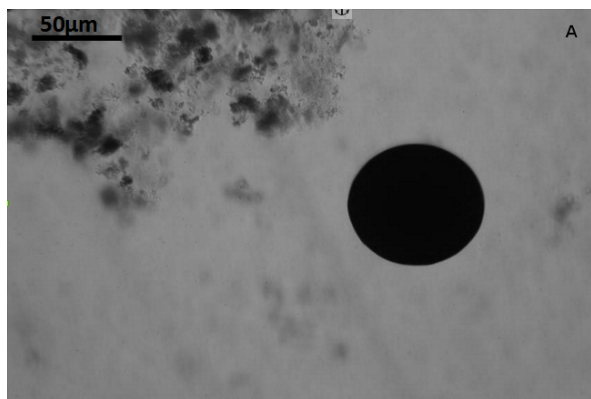
No período do estudo (agosto de 2014 a março de 2016) a salinidade da água variou de 18‰ a 40‰ e a temperatura de 27 a 33°C. O tamanho médio das ostras variou de 76,69 mm±10,76 a 103,97mm±30,12.

As análises macroscópicas realizadas nos animais mostraram a presença de poliquetas pertencentes ao gênero *Polydora*. Os vermes parasitaram as valvas externas e internas das ostras. Nas valvas internas os poliquetas formaram galerias e/ou tubos de cor escura causando um aspecto desagradável nos moluscos. Os tubos com coloração escura e as bolhas de lodo na concha, causados por *Polydora* sp., podem diminuir o valor de mercado dos moluscos. Infestações por *Polydora* sp. são comuns em bivalves de diversas partes do mundo. No Brasil, *Polydora* sp. foi observado em ostras nativas e na ostra japonesa *Crassostrea gigas* cultivadas em Santa Catarina e também em ostras de diferentes regiões da costa brasileira (SABRY et al., 2011).

Os ensaios de RFTM detectaram o protozoário *Perkinsus* sp. infectando as ostras investigadas em todos os meses amostrados. As células do patógeno, no estágio de hipnósporo, tinham forma esférica e coraram em preto ou azulado de acordo com a penetração do lugol (Figura 1). Dos 600 animais submetidos ao RFTM 95 foram positivos. A maior prevalência de *Perkinsus* sp., foi no mês de dezembro (33,3%). Essa prevalência foi maior que as registradas nas ostras do estuário do Rio Pacoti (Ceará) em 2008 (>6,7%) e 2009 (7,3%) (SABRY et al., 2009; SABRY et al., 2013), mas inferior à prevalência média de *Perkinsus* sp. (66,7%) em *Crassostrea rhizophorae* da Bahia (BRANDÃO et al., 2013). Apesar da prevalência observada nas ostras desse estudo ser moderada não foi observada mortalidade no banco natural que pudesse está relacionada à presença de *Perkinsus* sp. A intensidade de infecção variou de muito leve (1-10 células no preparado da lâmina) a leve (11 a 100 células).

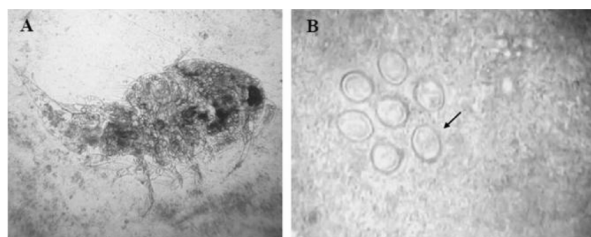
Apesar do RFTM ser um meio específico para *Perkinsus* sp., na coleta do mês de janeiro de 2015 foram observados copepódes possivelmente do gênero *Pseudomiycola* e protozoários do gênero *Neumatopsis* nos tecidos incubados (Figura 2 A e B). Copépodes têm sido detectados em bivalves no México com elevadas prevalências (100%), causando erosões no epitélio do estômago e da brânquia, com infiltração de hemócitos (CÁCERES-

Figura 1: Célula de *Perkinsus* sp. (seta) em tecidos de brânquias da ostra de mangue *Crassostrea gasar*, após incubação em RFTM durante sete dias.



MARTÍNEZ; CHÁVEZ-VILLALBA; GARDUÑO-MÉNDEZ, 2005). No Brasil copépodes já foram detectados em *Crassostrea gigas* cultivada em Florianópolis, Santa Catarina (SABRY et al., 2011).

Figura 2: Copépode (A) e *Nematopsis* sp. (B), observados em tecido de brânquias da ostra do mangue *Crassostrea gasar*, após incubação em meio fluido de tioglicolato de Ray –RFTM.



As análises histológicas evidenciaram hipertrofia gametocítica viral, bactérias do tipo *Rickettsia*, protozoários e metazoários.

A hipertrofia gametocítica, possivelmente causada por vírus, foi observada nos gametas masculinos de duas ostras. A célula hipertrofiada apresentou um conteúdo acidófilo e uma região periférica basófila (Figura 3A). A prevalência de ostras com essa alteração foi baixa (6,7%). O núcleo hipertrofiado com grânulos basofílicos na periferia das células sugeriu a presença de vírus das famílias Papillomaviridae e Polyomaviridae que são conhecidos por causarem a enfermidade Hipertrofia Gametocítica Viral (VGH, *Viral gametocytic hypertrophy*) (BOWER; MCGLADDERY; PRICE, 1994).

Bactérias do tipo *Rickettsia* foram detectadas nos túbulos digestivos das ostras com prevalências variando de 6,67 a 65,5% (Figura 3B). A intensidade de infecção por bactérias nas ostras foi considerada baixa (3 colônias/corte histológico). Não foram observados danos nos tecidos dos animais infectados, apesar das prevalências encontradas terem sido elevadas. Ao contrário, na ostra *Crassostrea gigas* da costa Atlântica da França infecções por bactérias causaram lesões e mudança na estrutura normal da brânquia (RENAULT; COCHENNEC, 1994). Os danos que as bactérias do tipo rickettsia causam nas células dos hospedeiros parecem diferir entre os moluscos (VILLALBA et al., 1999; SILVA; FUENTES; VILLALBA, 2005; BOEHS et al., 2010).

O protozoário *Perkinsus* sp. não foi observado na histologia, este fato pode estar relacionado à baixa intensidade de infecção que este patógeno encontrava-se nos tecidos.

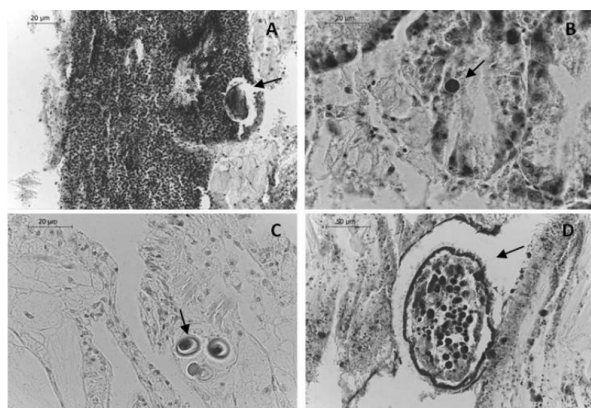
Nematopsis sp. foi detectado no tecido conjuntivo próximo da glândula digestiva, nas brânquias e também no manto das ostras com prevalências elevadas (Figura 3C). As células de *Nematopsis* (oocistos) se apresentaram com formato oval e caráter basófilo. As prevalências variaram de 10,7 a 80% e a intensidade de infecção nos tecidos foi baixa com no máximo 10 oocistos/corte histológico e sem causar danos no hospedeiro. Nos moluscos da costa brasileira, *Nematopsis* sp. tem sido detectado com prevalências elevadas sem, contudo, até o momento ter sido relatado mortalidades relacionadas à ocorrência desse protozoário. *Nematopsis* sp. utiliza bivalves como hospedeiro intermediário e completam seu ciclo de vida em artrópodos marinhos (LAUCKNER, 1983). Geralmente *Nematopsis* tem sido observado sem causar danos aos hospedeiros, no entanto, elevadas intensidades de infecção causaram alterações na morfologia das brânquias e manto de *Mytella guyanensis* da região Estuarina do Rio Cachoeira/BA (PINTO; BOEHS, 2008) e já foi associado à destruição das células das brânquias e mortalidade no bivalve *Cerastoderma edule* da região sul de Portugal (AZEVEDO; CACHOLA, 1992).

O protozoário ciliado pertencente ao gênero *Ancistrocoma* sp. foi observado no lúmen dos túbulos digestivos. Os ciliados apresentavam forma ovalada, núcleo basófilo e citoplasma eosinófilo. A maior prevalência média observada foi de 20% detectada nas ostras coletadas em dezembro de

2015. Este ciliado tem sido detectado em moluscos de diversas regiões (NASCIMENTO et al., 1986; PONTINHA, 2009; SABRY et al., 2013).

O metazoário *Urustoma* sp. foi observado nos filamentos branquiais das ostras (Figura 3D) com prevalência média de até 13,3%. Este metazoário não causou reação do hospedeiro talvez pelo fato da intensidade de infecção ter sido baixa (até 2 parasitas/corte histológico). A prevalência encontrada nesse estudo foi maior que a registrada em *C. rhizophorae* do Rio Pacoti, Ceará (3,3%) (SABRY et al., 2013).

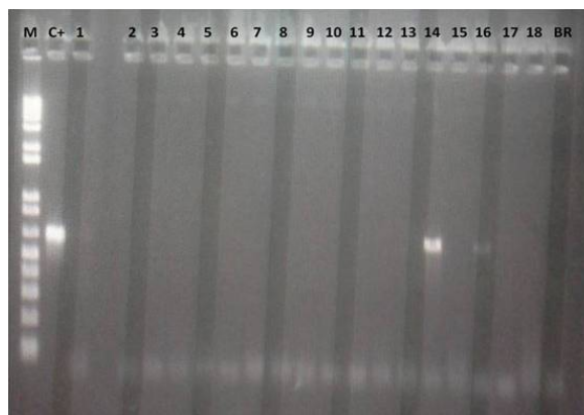
Figura 3: Patógenos em *Crassostrea gasar* do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim, Ceará no período de agosto de 2014 a março de 2016 (A) Gameta masculino hipertrofiado devido à presença de vírus (seta). (B) Bactéria do tipo *Rickettsia* (seta) no túbulo digestivo. (C) *Nematopsis* sp. no tecido conjuntivo das brânquias (seta). (D) Metazoário *Urustoma* sp. entre os filamentos branquiais. Coloração: HE.



De todos os animais positivos no meio de cultura de Ray – RFTM (N= 95) e submetidos ao PCR apenas 3 foram positivos para o gênero *Perkinsus* sp. (Figura 4). A diferença nos resultados entre estas técnicas pode está relacionado aos pequenos volumes de tecidos de brânquias conservados para a extração de DNA e às baixas intensidades de infecções observadas no RFTM. Resultados diferentes entre essas técnicas foram descritos por Reece, Dungan e Burreson (2008).

No presente estudo nenhum dos patógenos encontrados parece causar danos nas ostras *Crassostrea gasar*, mesmo quando foram observados em elevadas prevalências. Este fato possivelmente está relacionado a baixa intensidade de infecção em que foram observados. Apesar da maioria dos patógenos encontrados não estarem na lista

Figura 4: Diagnóstico molecular da região ITS do DNA ribossômico de espécies do gênero *Perkinsus* em *Crassostrea gasar*, mostrando 2 animais positivos (14 e 16). Eletroforese em gel de agarose 1,5%. M: marcador molecular; BR: branco; C+: controle positivo. Números de 1 a 18 (amostras).



de declaração obrigatória a Organização Mundial para Saúde Animal – OIE é necessário um monitoramento constante das populações de moluscos dessa região, pois os mesmos apresentam grande importância social e econômica para as comunidades locais.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises macroscópicas evidenciaram somente poliquetas do gênero *Polydora* sp. parasitando as valvas da ostra *Crassostrea gasar* do estuário do Rio Jaguaribe. As análises histológicas mostram hipertrofia dos gametas possivelmente causada por vírus, bactérias do tipo *Rickettsia*, protozoário do gênero *Nematopsis* e *Ancistrocoma* sp. e o metazoário *Urustoma* sp. As intensidades de infecção dos parasitas encontrados foram baixas mesmo quando as prevalências foram elevadas. Os parasitas encontrados em *C. gasar* do Rio Jaguaribe, Ceará, incluindo o protozoário *Perkinsus* sp. até o momento parece não causar impacto sobre as ostras dessa região. Este estudo registrou pela primeira vez a ocorrência de *Perkinsus* sp. em *C. gasar* do Estuário do Rio Jaguaribe, Ceará, contribuindo, portanto, para ampliar os conhecimentos sobre a enfermidade perkinsiose e de outros parasitas que estão afetando esta espécie de ostra na região.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M.; ROCHA-BARREIRA, C. Occurrence of *Bucephalus* sp. (Trematoda, Bucephalidae) in *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Mollusca, Veneridae) from Canto da Barra Beach, Fortim, Ceará State, Brazil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 37, p. 35–38, 2004.
- AZEVEDO, C.; CACHOLA, R. Fine structure of the apicomplexa oocyst of *Nematopsis* sp. of two marine bivalve molluscs. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 14, p. 69–73, 1992.
- BOEHS, G.; VILLALBA, A.; CEUTA, L.; LUZ, J. Parasites of three commercially exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira River (Ilhéus, Bahia, Brazil). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. 43–47, 2010.
- BOWER, S.; MCGLADDERY, S.; PRICE, I. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited Shellfish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 4, p. 1–199, 1994.
- BRANDÃO, R. P.; BOEHS, G.; SABRY, R. C.; CEUTA, L. O.; LUZ, M. S. A.; QUEIROGA, F. R.; DA SILVA, P. M. *Perkinsus* sp. infecting oyster *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) on the coast of Bahia, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 112, p. 138–141, 2013.
- BUSH, A.; LAFFERTY, A.; LOTZ, J.; SHOSTAK, A. Parasitology meets ecology on its own terms: Margoli et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, p. 575–583, 1997.
- CÁCERES-MARTÍNEZ, C.; CHÁVEZ-VILLALBA, J.; GARDUÑO-MÉNDEZ, L. First record of *Pseudomyicola spinosus* in *Argopecten ventricosus* in Baja California, Mexico. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 89, p. 95–100, 2005.
- CASAS, S.; VILLALBA, A.; REECE, K. Study of perkinsosis in the carpet shell clam *Tapes decussatus* in Galicia (NW Spain). I. Identification of the aetiological agent and in vitro modulation of zoosporulation by temperature and salinity. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 50, p. 51–65, 2002.
- DA SILVA, P. M.; VIANNA, R. T.; GUERTLER, C.; FERREIRA, L. P.; SANTANA, L. N.; FERNÁNDEZ-BOO, S.; RAMILO, A.; CAO, A.; VILLALBA, A. First report of the protozoan parasite *Perkinsus marinus* in South America, infecting mangrove oysters *Crassostrea rhizophorae* from the Paraíba River (NE, Brazil). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 113, p. 96–103, 2013.
- DANTAS-NETO, M.; SABRY, R.; FERREIRA, L.; ROMÃO, L.; MAGGIONI, R. *Perkinsus* sp. infecting the oyster *Crassostrea rhizophorae* from estuaries of the septentrional Northeast, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, p. 1030–1034, 2015.
- FERREIRA, L.; SABRY, R.; SILVA, P. D.; GESTEIRA, T.; ROMÃO, L.; PAZ, M.; R.G., F.; DANTAS NETO, M.; MAGGIONI, R. First report of *Perkinsus beihaiensis* in wild clams *Anomalocardia brasiliana* (Bivalvia: Veneridae) in Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 150, p. 67–70, 2015.
- HOWARD, D.; LEWIS, E.; KELLER, B.; SMITH, C. Histological techniques for marine bivalve mollusks and crustaceans. **The NOAA Technical Memorandum**, v. 2, p. 218, 2004.
- LAUCKNER, G. Diseases of marine animals. In: KINNE, O. (Ed.). **Diseases of Mollusca: Bivalvia**. Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland, 1983. cap. Diseases of Mollusca: Bivalvia, p. 478–961.
- LIMA, F.; ABREU, M.; MESQUITA, E. Monitoramento histopatológico de mexilhão *Perna perna* da Lagoa de Itaipu, Niterói, RJ. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, p. 203–206, 2001.
- NASCIMENTO, I.; SMITH, D.; KERN II, F.; PEREIRA, S. Pathological findings in *Crassostrea rhizophorae* from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 47, p. 340–349, 1986.
- PINTO, T.; BOEHS, G. *Nematopsis* sp. (Apicomplexa: Eugregarinida) em *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mytilidae) da região estuarina do Rio Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, p. 95–100, 2008.
- PONTINHA, V. Diagnóstico da saúde da ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) cultivada

- em Florianópolis/SC.** Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Santa Catarina, 2009. 53 f., Mestrado em Aquicultura.
- QUEIROGA, F.; VIANNA, R.; VIEIRA, C.; FARIAS, N.; SILVA, P. D. Parasites infecting the cultured oyster *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) in Northeast Brazil. **Parasitology**, v. 142, p. 756–766, 2015.
- RAY, S. **Biological studies of *Dermocystidium marinum*, a fungus parasite of oyster.** Tese (Doutorado) — Texas: Rice Institute Pamphlet Houston, 1954.
- REECE, K.; DUNGAN, C.; BURRESON, E. Molecular epizootiology of *Perkinsus marinus* and *P. chesapeaki* infections among wild oysters and clams in Chesapeake Bay, USA. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 82, p. 237–248, 2008.
- RENAULT, T.; COCHENNEC, N. Rickettsia-like organisms in the cytoplasm of gill epithelial cells of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 61, p. 160–162, 1994.
- SABRY, R.; GESTEIRA, C.; MAGALHÃES, A.; BARRACCO, M.; GUERTLER, C.; FERREIRA, L.; VIANNA, R.; SILVA, P. D. Parasitological survey of mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*, in the Pacoti River Estuary, Ceará State, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 112, p. 24–32, 2013.
- SABRY, R.; GESTEIRA, T.; ASSIS, C.; SILVEIRA, F. Ocorrência de parasitismo no sururu *Mytella falcata* (Orbigny, 1846), do Estuário do Rio Jaguaribe – CE. In: **Anais do Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos**. Ceará: [s.n.], 2006. (Resumos..., IX), p. 88.
- SABRY, R.; MAGALHÃES, A. Parasitas em ostras de cultivo (*Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, p. 194–202, 2005.
- SABRY, R.; ROSA, R.; MAGALHÃES, A.; BARRACCO, M.; GESTEIRA, T.; SILVA, P. D. First report of *Perkinsus* sp. infecting mangrove oysters *Crassostrea rhizophorae* from the Brazilian coast. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 88, p. 13–23, 2009.
- SABRY, R.; SILVA, P. D.; GESTEIRA, T.; PONTINHA, V.; MAGALHÃES, A. Pathological study of oysters *Crassostrea gigas* from culture and *C. rhizophorae* from natural stock of Santa Catarina Island, SC, Brazil. **Aquaculture**, v. 60, p. 43–50, 2011.
- SHAW, B.; BATTLE, H. The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). **Canadian Journal of Zoology**, v. 35, p. 325–347, 1997.
- SILVA, P. D.; FUENTES, J.; VILLALBA, A. Growth, mortality and disease susceptibility of oyster *Ostrea edulis* families obtained from brood stocks of different geographical origins, through on-growing in the Ría de Arousa (Galicia, NW Spain). **Marine Biology**, v. 147, p. 965–977, 2005.
- SILVA, P. D.; MAGALHÃES, A.; BARRACCO, M. Pathologies in commercial bivalve species from Santa Catarina State, southern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 2012.
- VILLALBA, A.; CARBALLAL, M.; LÓPEZ, C.; CABADA, A.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Branchial Rickettsia-like infection associated with clam *Venerupis rhomboides* mortality. **Disease of Aquatic Organisms**, v. 36, p. 53–60, 1999.