



## **AVALIAÇÃO DE DOSES SUBLETAIS E DO RISCO AMBIENTAL DA OXITETRACICLINA EM LARVAS DE TILÁPIA-DO-NILO SUBMETIDAS AO MANEJO DE ESTRESSE**

Natalia Akemi **Takeshita**<sup>1</sup>; Bruna Milke **Chiste**<sup>2</sup>; Claudio Martin **Jonsson**<sup>3</sup>; Cristiano Campos **Mattioli**<sup>4</sup>; Hamilton **Hisano**<sup>5</sup>

**Nº 20407**

**RESUMO** – A intensificação da aquicultura gerou o aumento de doenças bacterianas nos peixes, e conseqüentemente a utilização de antibióticos. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito de dosagens subletais de oxitetraciclina após a exposição ao ar sobre a mortalidade de larvas de tilápia-do-nylo, assim como determinar o risco ambiental e verificar o possível efeito deste fármaco nos parâmetros de qualidade da água. Foram utilizadas 210 larvas com peso médio inicial de  $33,9 \pm 0,73$  mg e comprimento médio inicial de  $13 \pm 0,72$  mm, previamente aclimatadas por 48 horas e em jejum por 12 horas. Após o estresse por exposição ao ar durante cinco minutos, os peixes foram distribuídos aleatoriamente em 21 aquários (10 larvas/aquário), onde foram expostos a seis concentrações de oxitetraciclina 0,03; 0,82; 1,65; 2,47; 3,30 e 4,12 mg L<sup>-1</sup>, totalizando sete tratamentos, incluindo o controle e três repetições de cada tratamento. A mortalidade foi contabilizada 24 e 48 horas após a exposição ao antibiótico. Os parâmetros de qualidade da água foram medidos diariamente (pH, oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade). A oxitetraciclina foi classificada de acordo com o risco de contaminação ambiental para os peixes, usando o método para o cálculo de coeficiente de risco (CR). Os valores de pH, temperatura e oxigênio dissolvido obtidos demonstraram diferença estatística significativa. O manejo de estresse (exposição ao ar) potencializa os efeitos tóxicos da oxitetraciclina. Além disso, com base no coeficiente de risco, a oxitetraciclina apresenta alto risco para larvas de tilápia-do-nylo.

**Palavras-chaves:** antibiótico, piscicultura, impacto ambiental, toxicidade, *Oreochromis niloticus*.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Medicina Veterinária, Centro Universitário de Jaguariúna - UNIFAJ, Jaguariúna-SP; nataliaakemi3@gmail.com.

2 Colaborador, Bolsista CNPq (ITI-A): Graduação Medicina Veterinária, Centro Universitário de Jaguariúna - UNIFAJ, Jaguariúna-SP.

3 Colaborador, Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP.

4 Colaborador, Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial do CNPq – Nível B, Jaguariúna-SP.

5 Orientador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; hamilton.hisano@embrapa.br.



**ABSTRACT** – *The intensification of aquaculture has increased the bacterial diseases in fish, and consequently the use of antibiotics. The objective of the study was to evaluate the effect of sub-lethal dosages of oxytetracycline after exposure to air on the mortality of Nile tilapia larvae, as well as to determine the environmental risk and verify the possible effect of this drug on water quality parameters. A total of 210 larvae were used with an average initial weight of  $33.9 \pm 0.73$  mg and an average initial length of  $13 \pm 0.72$  mm, previously acclimated for 48 hours and fasted for 12 hours. After stress from exposure to air for five minutes, fish were randomly assigned to 21 aquaria (10 larvae/aquarium), where they were exposed to six oxytetracycline concentrations: 0.03; 0.82; 1.65; 2.47; 3.30 and  $4.12 \text{ mg L}^{-1}$ , totaling seven treatments, including control and three repetitions of each treatment. Mortality was counted 24 and 48 hours after exposure to the antibiotic. Water quality parameters were measured daily (pH, dissolved oxygen, temperature, conductivity). Oxytetracycline was classified according to the risk of environmental contamination for fish, using the method for calculating the risk coefficient (RC). The values of pH, temperature and dissolved oxygen showed a statistically significant difference. Stress management (exposure to air) potentiates the toxic effects of oxytetracycline. In addition, based on the risk coefficient, oxytetracycline presents high risk for Nile tilapia larvae.*

**Keywords:** antibiotic, fish farming, environmental impact, toxicity, *Oreochromis niloticus*.

## 1 INTRODUÇÃO

A tilápia-do-nilo é uma das principais espécies de peixes produzidos no Brasil, e se destaca pelo seu potencial zootécnico (BARROSO; MUÑOZ; CAI, 2019). Em 2019, a produção de tilápia no Brasil alcançou 432.149 toneladas, representando 57% do total da produção da piscicultura nacional (MEDEIROS; ALBUQUERQUE, 2020). Os sistemas de produção aquícolas preconizados atualmente estão baseados no uso de altas densidades de estocagem de peixes (GARCIA *et al.*, 2013). Dessa forma, problemas com baixa qualidade de água e estresse aos animais são frequentes, podendo ocasionar imunossupressão e aumento do risco de doenças, tornando a produção cada vez mais dependente de químicos para o tratamento de enfermidades, a exemplo dos antimicrobianos (MONTEIRO *et al.*, 2015).

A oxitetraciclina é um antibiótico do grupo das tetraciclinas e sua utilização é bastante difundida mundialmente para o tratamento de infecções bacterianas em peixes (RIGOS; TROISI, 2005), devido seu amplo espectro, efetividade e baixo custo. Este antibiótico possui ação



bacteriostática e inibe a síntese proteica em bactérias gram-negativas e gram-positivas (RIGOS; NEMGAS; ALEXIS, 2006).

Apesar de muito efetivo, o uso da oxitetraciclina em peixes pode gerar distúrbios negativos no organismo dos peixes, devido à utilização excessiva ou inadequada desse medicamento (MARSHALL; LEVY, 2011). Pode também ocasionar imunossupressão, nefrotoxicidade (ISLAM *et al.*, 2015), alterações na eritropoiese e na imunidade celular com diminuição do índice fagocitário (REDA *et al.*, 2013; RIJKERS *et al.*, 1980), estresse oxidativo (radicais hidroxila e peroxinitrito) causando lesões no sistema nervoso, degradação celular, morte celular (RODRIGUES *et al.*, 2018) e hepatotoxicidade (GUARDIOLA *et al.*, 2012).

Por outro lado, os antibióticos podem ser classificados de acordo com o risco ambiental, o qual representa o impacto da substância para os organismos no meio ambiente (FUJIMOTO *et al.*, 2012). Quando esse tipo de medicamento contamina os corpos hídricos pode desenvolver resistência aos antibióticos por algumas bactérias, riscos à saúde humana, microflora e microfauna ambiental (RIGOS *et al.*, 2004).

Os peixes são expostos a condições estressantes durante o manejo em pisciculturas, e o estresse é uma resposta do organismo a qualquer situação que altere o estado de repouso normal provocando modificações no estado fisiológico e mudanças bioquímicas. A densidade de estocagem e o baixo nível de oxigênio dissolvido são os principais estressores na piscicultura (NI *et al.*, 2014), onde o aumento de densidade na criação e produção no geral levou a uma superlotação nos sistemas de produção gerando um estressor que altera o bem-estar dos peixes, assim como sua resposta imune e seu desempenho do crescimento (YOUSEFI *et al.*, 2016). Estressores podem ocorrer durante as atividades de criação, como hipercapnia, hipóxia, transporte, triagem e manuseio resultando em alterações no metabolismo dos peixes (HOSEINI *et al.*, 2016).

Os organismos aquáticos sofrem alterações metabólicas quando expostos a estressores ambientais como substâncias químicas e mudanças na temperatura do ambiente (IWAMA, 1998). Essa resposta pode ser caracterizada por primária, secundária e terciária. Os efeitos primários incluem uma elevação no plasma dos níveis de corticosteroides e catecolaminas, principalmente o cortisol (MOORE; HAWKE, 2004). Os efeitos secundários levam a alterações bioquímicas e fisiológicas mediada pelos hormônios do estresse, onde há ativação de várias vias metabólicas e alteração na proteína total e glicose do sangue. Por fim, os efeitos terciários englobam alterações gerais no organismo do animal em relação à quebra de energia, desviando os substratos das vias de desenvolvimento do peixe e tentando suprir as alterações obtidas do estresse (IWAMA, 1998).



A resposta ao estresse é mediada pelo sistema neuroendócrino e celular em nível molecular e orgânico. Essas respostas afetam diretamente a saúde do animal em relação à resistência a doenças, ao crescimento e à reprodução (NAKANO; HAYASHI; NAGAMINE, 2018). Quando em situação estressante a capacidade do animal de tolerar estressores depende da resposta terciária do organismo, e em conjunto com a presença de um tóxico no ambiente aquático a resposta fica ainda mais comprometida, pois o nível de efeitos será ainda maior envolvendo ação em nível molecular, celular e bioquímico (WEIS, 2001; LIMA *et al.* 2006).

Nas fases iniciais de desenvolvimento de vida dos peixes, as larvas são organismos distintos dos adultos devido à questão ecológica e aquisição de recursos, assim o estudo das larvas é importante em relação ao crescimento, alimentação, mortalidade, transporte e comportamento dos animais, levando em consideração que são mais sensíveis à exposição com contaminantes e condições estressantes (BIALETZKI *et al.*, 2016). Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de dosagens subletais de oxitetraciclina após exposição ao ar sobre a mortalidade de larvas de tilápia-do-nylo, assim como determinar o risco ambiental e verificar o possível efeito deste fármaco nos parâmetros de qualidade da água.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP. Para os testes de exposição foi utilizado produto comercial Terramicina® como fonte de oxitetraciclina e seguiram os procedimentos estabelecidos nas diretrizes da OECD (1992). Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Meio Ambiente (Protocolo nº 011/2018).

As larvas foram adquiridas em piscicultura comercial, localizada no município de Monte Mor - SP. Os animais foram previamente aclimatados por 48 horas, a fim de preservar a fase de desenvolvimento determinada para o estudo. A água utilizada apresentou como variáveis de qualidade da água: temperatura 28°C (controle por termostato); pH 6,8; aeração artificial constante, oxigênio dissolvido  $>5 \text{ mg L}^{-1}$ ; condutividade  $14,00 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$  e  $\text{NH}_4 < 0,1 \text{ mg L}^{-1}$ . As renovações de água foram efetuadas diariamente e a alimentação foi realizada com ração comercial específica para a fase. Os eventuais resíduos de fezes e sobra de rações do tanque eram retirados diariamente por sifonamento. Os parâmetros de qualidade da água foram medidos diariamente, sendo eles pH, oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade, utilizando sonda Horiba (modelo U 53), dureza e amônia total utilizando LabconTest®.

Anteriormente ao ensaio, os animais foram privados de alimentação por 12 horas para a realização do teste de estresse e exposição a doses subletais de oxitetraciclina durante o período



de 48 horas. Foram utilizadas 210 larvas de tilápia-do-nilo com peso médio inicial de  $33,9 \pm 0,73$  mg e comprimento médio inicial de  $13 \pm 0,72$  mm. Após o estresse por exposição ao ar durante cinco minutos, os peixes foram distribuídos aleatoriamente em 21 aquários com volume útil de 1 L (10 larvas/aquário), onde foram expostos a seis concentrações de oxitetraciclina 0,03; 0,82; 1,65; 2,47; 3,30 e 4,12 mg L<sup>-1</sup>, totalizando sete tratamentos, incluindo o controle e três repetições de cada tratamento. A mortalidade foi contabilizada 24 e 48 horas após a exposição ao antibiótico. A eutanásia dos animais após o ensaio experimental (96 h) foi realizada com hidróclorato de benzocaína (250 mg L<sup>-1</sup>), seguindo a Resolução nº 1000/2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2012).

A oxitetraciclina foi classificada de acordo com o risco de contaminação ambiental para os peixes, usando o método para o cálculo de coeficiente de risco (CR) (HERNANDO *et al.*, 2006; DIAZ-GARDUNO *et al.*, 2017). Segundo HERNANDO *et al.* (2006) duas variáveis são utilizadas para calcular o CR, sendo elas a concentração ambiental estimada (CAE) e a concentração de efeito não observado (CENO). Para o cálculo da CENO utilizou-se a concentração letal média (CL50) avaliada para essa mesma fase de desenvolvimento da tilápia-do-nilo em nossos estudos anteriores com valor de 3,45 mg L<sup>-1</sup> (TAKESHITA *et al.*, 2019). O cálculo da CENO é realizado a partir da CL50 dividida por 10, para que assim possa significar um fator de avaliação intra e inter-espécies em relação à sensibilidade. O risco de intoxicação ambiental aguda por oxitetraciclina é dependente da CAE, onde foi considerada a concentração de 4 mg L<sup>-1</sup> do antibiótico (MIRANDA *et al.*, 2014), que é eficiente no controle de infecções em peixes.

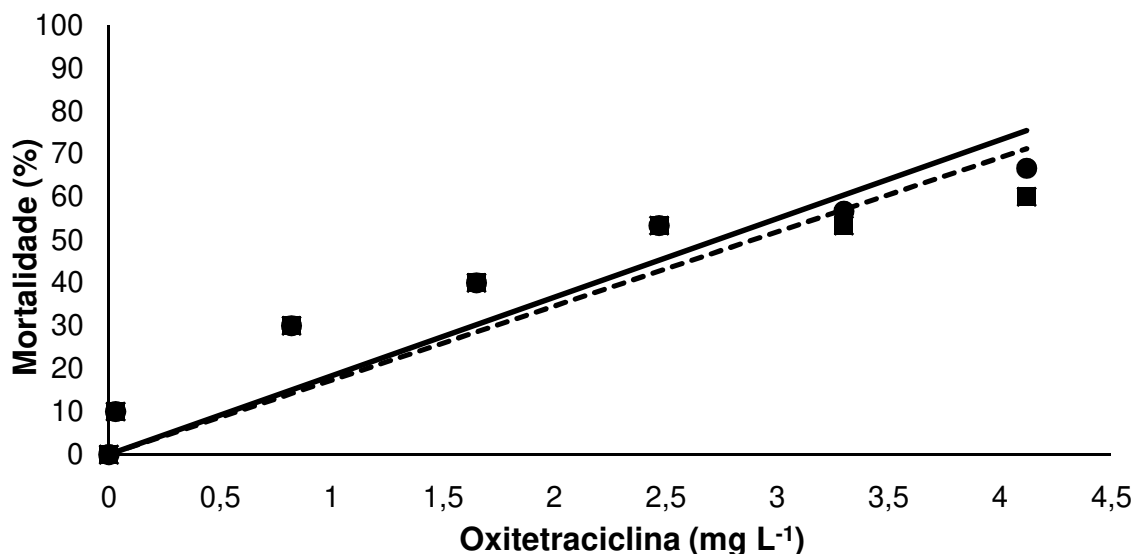
O CR foi calculado a partir da divisão entre CAE e CENO. Um critério comum para a interpretação do CR estabelece diferentes níveis de risco, como sendo: < 0,01: risco insignificante; 0,01 – 0,1: baixo risco; 0,1 – 1: risco médio; >1: alto risco (HERNANDO *et al.*, 2006, DIAZ-GARDUNO *et al.*, 2017).

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade da variância, seguido por análise de variância (ANOVA). Quando significativo, aplicou-se a regressão polinomial para a mortalidade após o estresse e o teste de Tukey a 5% de probabilidade para os parâmetros de qualidade de água. Os dados foram analisados no programa estatístico R versão 3.5.1. (R CORE TEAM, 2018).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mortalidade das larvas de tilápia-do-nilo, após o manejo de exposição ao ar e concentrações subletais de oxitetraciclina foi registrada nos períodos de 24 e 48 h (Figura 1). No período de 24 h, a mortalidade foi mais acentuada e aumentou ( $P < 0,05$ ) linearmente em função

das crescentes dosagens do antibiótico ( $y=15,142x+9,9565$ ;  $R^2 = 0,9186$ ) atingindo 60% na maior concentração ( $4,12 \text{ mg L}^{-1}$ ). No período de 48 h, a mortalidade também apresentou o mesmo comportamento ( $y=16,504x+9,1039$ ;  $R^2 = 0,9447$ ) com um acréscimo de 6,7% de mortalidade em relação aos valores de 24 horas na maior concentração. Não houve mortalidade dos animais do tratamento controle ( $0 \text{ mg L}^{-1}$ ).

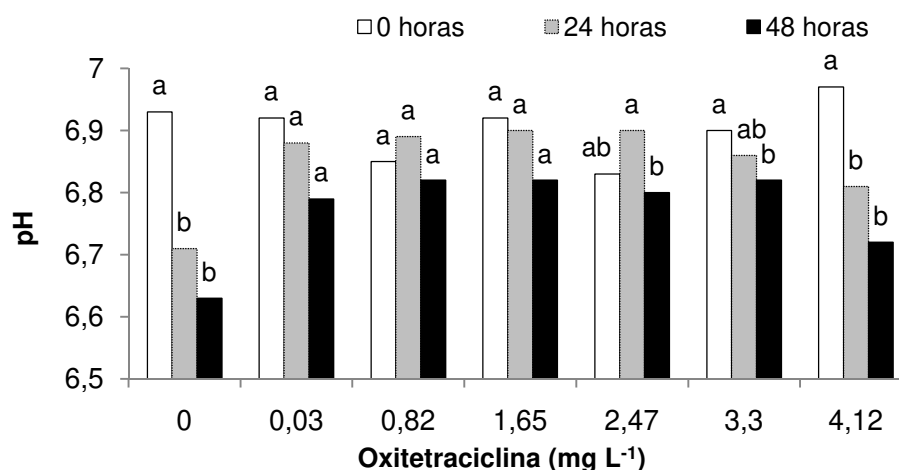


**Figura 1.** Mortalidade das larvas de tilápia-do-nylo após estresse agudo e expostas a oxitetraciclina por 24h (■ ---) e 48h (● —).

As larvas utilizadas no estudo apresentaram comportamento atípico após a exposição ao antibiótico, como natação irregular e principalmente a permanência na superfície da água com alto batimento de opérculo. MACHADO *et al.* (2016) observaram em seus estudos as alterações no comportamento dos peixes causadas pela oxitetraciclina, como falta de capacidade de arremesso, natação irregular, aumento do batimento opercular e permanência na superfície da água. Em estudos com poluentes que levam ao estresse do animal, foi relatado que os movimentos operculares são dependentes do consumo de oxigênio e da condição de estresse, onde os animais realizam goles frequentes de ar para evitar o contato com o tóxico e aliviar o estresse respiratório (SHRIVASTAVA, THAKUR; SHRIVASTAVA, 2011).

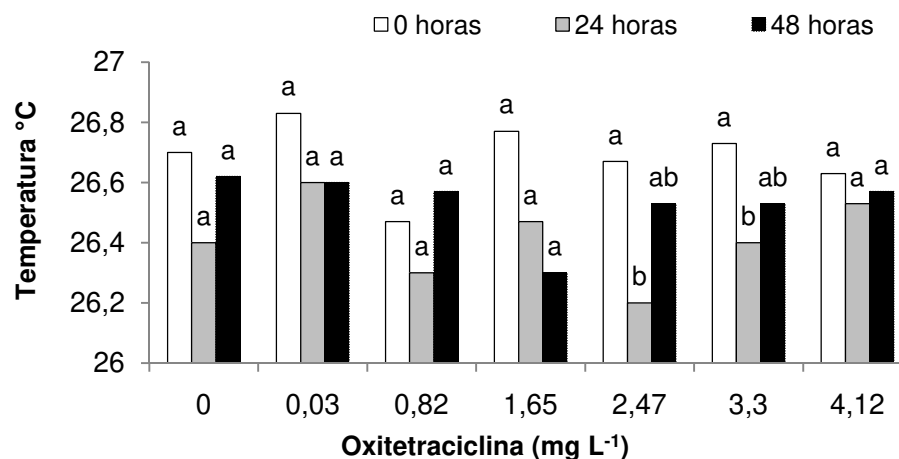
Os valores de pH estão apresentados na Figura 2. O pH do tratamento controle ( $0 \text{ mg L}^{-1}$ ), 2,47, 3,30 e  $4,12 \text{ mg L}^{-1}$  diferiram ( $P < 0,05$ ) ao longo dos períodos com diminuição dos valores, exceto para  $3,30 \text{ mg L}^{-1}$ . Essa diminuição ocorre devido a concentração de íons  $\text{H}^+$  originados da dissociação do ácido carbônico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) (ESTEVES, 1998), que pode estar relacionada com o metabolismo de respiração dos animais e decomposição de matéria orgânica (fezes e excretas) durante o ensaio experimental. Segundo a Resolução CONAMA Nº 020/1986, que “dispõe sobre a

classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional”, o pH ideal para a aquicultura de espécies destinadas à alimentação humana em águas doces varia de 6 a 9, assim os valores de pH do estudo estão dentro dos valores de referência.



**Figura 2.** Valores de pH em teste de exposição subletal de oxitetraciclina por 0, 24 e 48 horas, respectivamente. Letras distintas indicam diferenças significativas por Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os valores de temperatura (Figura 3) indicaram diferença estatística nas concentrações de 2,47 mg L<sup>-1</sup> e 3,30 mg L<sup>-1</sup>, onde houve ligeiro decréscimo de temperatura do período inicial e 24 h.

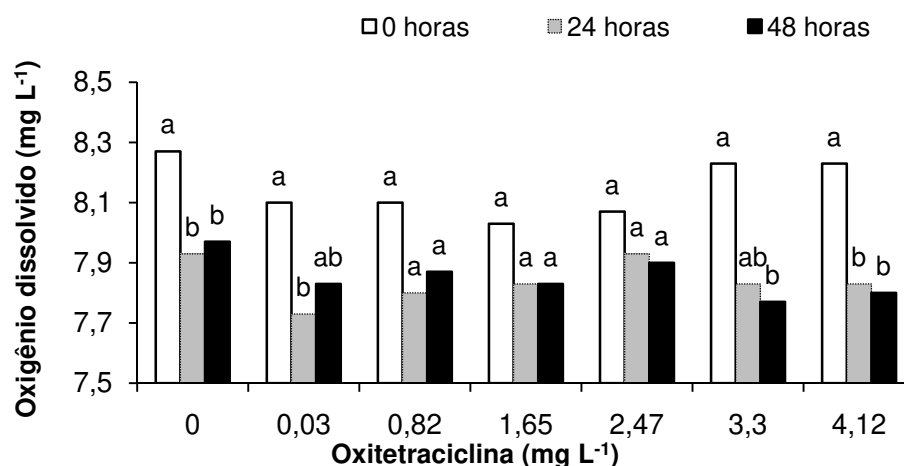


**Figura 3.** Valores de temperatura (°C) em teste de exposição subletal de oxitetraciclina por 0, 24 e 48 horas, respectivamente. Letras distintas indicam diferenças significativas por Tukey ( $P < 0,05$ ).

A temperatura da água pode afetar diretamente a atividade, comportamento, nutrição, crescimento e reprodução dos peixes, as taxas metabólicas aceleram com o aumento da temperatura (SWANN, 1997). A temperatura para produção de tilápia-do-nilo varia entre 23° C a 32° C (OSTRENSKI; BOEGER, 1998) e os valores obtidos no estudo estão dentro do recomendado para a espécie.



O oxigênio dissolvido do tratamento controle ( $0 \text{ mg L}^{-1}$ )  $3,30 \text{ mg L}^{-1}$  e  $4,12 \text{ mg L}^{-1}$  reduziu ( $P < 0,05$ ) ao longo do período experimental (Figura 4). Já na concentração de  $0,03 \text{ mg L}^{-1}$  houve ligeira redução ( $P < 0,05$ ) nas primeiras 24h e que diferiu estatisticamente do período inicial. Essa diminuição do oxigênio dissolvido era esperada, em função do metabolismo de respiração dos animais.



**Figura 4.** Valores de oxigênio dissolvido em teste de exposição subletal de oxitetraciclina por 0, 24 e 48 horas, respectivamente. Letras distintas indicam diferenças significativas por Tukey ( $P < 0,05$ ).

Segundo Resolução CONAMA Nº 020/1986 que “dispõe sobre a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional”, levando em consideração que a tilápia-do-nylo é um peixe de água doce (LAAN, 2018), o oxigênio dissolvido ideal não deve ser inferior a  $6 \text{ mg L}^{-1}$  os valores obtidos durante o estudo se encontram dentro dos valores de referência (Figura 4).

A diminuição de oxigênio dissolvido pode ocorrer pela presença de resíduos orgânicos (fezes), morte e decomposição de matéria orgânica ou por certas substâncias químicas que podem remover o oxigênio da água (FRANCIS-FLOYD, 2003). A oxitetraciclina pode levar ao consumo de oxigênio dissolvido da água para degradação da molécula, assim como a respiração dos animais pode estar envolvida com esse decréscimo de oxigênio dissolvido (KRAMER, 1987).

A oxitetraciclina foi classificada de acordo com HERNANDO *et al.* (2006) e DIAZ-GARDUNO *et al.* (2017) e apresentou alto risco de intoxicação ambiental ( $CR = 11,6$ ) quando utilizado a CAE ( $4 \text{ mg L}^{-1}$ ) referente a concentração eficiente no tratamento de infecções bacterianas em peixes. A farmacocinética da oxitetraciclina baseia-se no seu caráter hidrofílico, assim consegue penetrar através dos poros na membrana celular de bactérias, age inibindo a síntese de proteínas (tradução), alterando o complexo ribossomo-mensageiro, sendo essa ligação reversível. Contudo, a limitação desse antibiótico se deve a sua baixa seletividade tóxica, pois podem agir tanto em organismos procariontes como eucariontes (LEAL *et al.*, 2018). Deste modo, a





farmacocinética da oxitetraciclina descreve a classificação como alto risco de intoxicação ambiental, podendo atingir diversos tipos de organismos aquáticos, assim como levar ao aumento da resistência bacteriana.

A realização dos cálculos de CR é importante para a previsão de possíveis intoxicações e não deve ser usado para prever quantitativamente em relação à mortalidade dos animais, ele apenas é usado qualitativamente como um indicador aproximado para comparação de risco e de possíveis impactos nos organismos (USEPA, 1998).

MACHADO *et al.* (2016) com CAE (10 mg L<sup>-1</sup>) apresentaram CR de 1,82 para pós-larvas de tilápia-do-nilo, considerado alto risco ambiental. CARRASCHI *et al.* (2011) com CAE (50 mg kg<sup>-1</sup>) apresentaram CR de 6,58 para alevinos de pacu *Piaractus mesopotamicus*, considerado alto risco ambiental. Ambos os estudos com espécies distintas apresentaram índices de alto risco ambiental relacionado à exposição de oxitetraciclina aos organismos aquáticos.

O uso da oxitetraciclina representa alto risco ambiental na maioria dos estudos, isso pode ser causado devido os efeitos tóxicos que esse antibiótico causa nos organismos aquáticos, como resposta imune inata deprimida, elevação de cortisol, danos patológicos nos tecidos e indução de estresse oxidativo (HOSEINI; YOUSEFI, 2019). A oxitetraciclina suprime extremamente o sistema imunológico dos peixes, sendo a imunidade humoral a mais afetada. Há uma diminuição do crescimento bacteriano e imunidade baixa, assim um microrganismo que não seja tratado pelo antibiótico, ou bactérias resistentes pode causar doenças nos animais (RIJKERS *et al.*, 1980).

#### 4 CONCLUSÃO

A exposição ao ar é um fator estressor para as larvas de tilápia-do-nilo e em conjunto com a exposição a doses subletais de oxitetraciclina pode agravar seus efeitos tóxicos. Além disso, com base no coeficiente de risco, a oxitetraciclina apresenta alto risco para larvas de tilápia-do-nilo.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica (PIBIC), ao Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança da Embrapa Meio Ambiente (LEB) pela infraestrutura e todos os materiais necessários, e por fim a todos os colaboradores que auxiliariam na realização deste estudo.

#### 6 REFERÊNCIAS

BARROSO, R. M.; MUÑOZ A. E. P.; CAI, J. **Social and economic performance of tilapia farming in Brazil**. Rome: FAO, 2019. 56 p. (FAO Fisheries and Aquaculture Circular, n. 1181).



BIALETZKI, A. *et al.* (Ed.) **Ovos, larvas e juvenis dos peixes da Bacia do Rio Paranapanema: uma avaliação para a conservação**. Assis: Triunfal Gráfica e Editora, 2016 Cap. 2, p. 17-24.

CARRASCHI, S. P. *et al.* Acute toxicity and environmental risk of oxytetracycline and florfenicol antibiotics to pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 37, n. 2, p. 115-122, 2011.

CFMV. Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. In: CFMV. **Manual de Legislação do Sistema CFMV/CRMVs**. Brasília, DF, 17 maio 2012. Seção 1, p. 124-125.

CONAMA. Resolução nº 20, de 18 de junho de 1986. Dispõe sobre a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 jul. 1986. p. 11356-11361.

DIAZ-GARDUNO, B. *et al.* Environmental risk assessment of effluents as a whole emerging contaminant: Efficiency of alternative tertiary treatments for wastewater depuration. **Water Research**, v. 119, p. 136-149, 2017.

ESTEVES, A. F. **Fundamentos de Limnologia**. 2º ed. Rio de Janeiro: Ed. Interciência, 1998. 226 p.

FRANCIS-FLOYD, R. **Dissolved oxygen for fish production**. Gainesville: Florida Cooperative Extension Service – Department of Fisheries and Aquatic Sciences, University of Florida, 2003. 3 p.

FUJIMOTO, R. Y. *et al.* Toxicidade e risco ambiental da oxitetraciclina e efeito em leucócitos de mató grosso (*Hyphessobrycon eques*). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 7, n. 2, p. 11-15, 2012.

GARCIA, F. *et al.* Stocking density of Nile tilapia in cages placed in a hydroelectric reservoir. **Aquaculture**, v. 410-411, p. 51-56, 2013.

GUARDIOLA, F. A. *et al.* Modulation of the immune parameters and expression of genes of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) by dietary administration of oxytetracycline. **Aquaculture**, v. 334-337, p. 51-57, 2012.

HERNANDO, M. D. *et al.* Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. **Talanta**, v. 69, p. 334-342, 2006.

HOSEINI, S. M. *et al.* Physiological, ionoregulatory, metabolic and immune responses of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) to stress. **Aquaculture Research**, v. 47, p. 3729-3739, 2016.

HOSEINI, S. M.; YOUSEFI, M. Beneficial effects of thyme (*Thymus vulgaris*) extract on oxytetracycline-induced stress response, immunosuppression, oxidative stress and enzymatic changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v. 25, p. 298-309, 2019.

ISLAM M. J. *et al.* Effect of oxytetracycline on Thai Silver Barb (*Barbonymus gonionotus*) and on its culture environment. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 10, n. 5, p. 323-336, 2015.

IWAMA, G. K. Stress in Fish. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 851, p. 304-310, 1998.

KRAMER, D. L. Dissolved oxygen and fish behavior. **Environmental Biology of Fishes**, v. 18, n. 2, p. 81-92, 1987.

LAAN, R. V. D. **Freshwater fish list**. 24. ed. Almere: [s. n.], 2018. 1010 p. ISSN 2468-9157. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/329391058\\_Freshwater\\_Fish\\_List\\_25th\\_Edition\\_Dec\\_2018](https://www.researchgate.net/publication/329391058_Freshwater_Fish_List_25th_Edition_Dec_2018)>. Acesso em: 13 julho 2020.

LEAL, J. F.; SANTOS, E. B. H.; ESTEVES, V. I. Oxytetracycline in intensive aquaculture: water quality during and after its administration, environmental fate, toxicity and bacterial resistance. **Reviews in Aquaculture**, p. 1-19, 2018.



- LIMA, L. C. *et al.* Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 3/4, p. 113-117, 2006.
- MACHADO, A. A. *et al.* Acute toxicity and environmental risk of oxytetracycline antibiotic for tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Daphnia magna* and *Lemna minor*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 5, p. 1244-1250, 2016.
- MARSHALL, B. M.; LEVY, S. B. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 718-733, 2011.
- MEDEIROS, F.; ALBUQUERQUE, A. **Anuário Peixe BR da Piscicultura 2020**. São Paulo: Associação Brasileira de Piscicultura, 2020. 136p.
- MIRANDA, C. D. *et al.* Effect of florfenicol and oxytetracycline treatments on the intensive larval culture of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). **Aquaculture Research**, v. 45, p. 16-30, 2014.
- MONTEIRO, S. H. *et al.* Multiresidue antimicrobial determination in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cage farming by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Aquaculture**, v. 447, p. 37-43, 2015.
- MOORE, M. M.; HAWKE, J. P. Immunology. In: TUCKER, C. S.; HARGREAVES J. A. (Org.). **Biology and Culture of Channel Catfish**. Amsterdam: Elsevier, 2004. cap. 13.
- NAKANO, T.; HAYASHI, S.; NAGAMINE, N. Effect of excessive doses of oxytetracycline on stress-related biomarker expression in coho salmon. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 7121-7128, 2018.
- NI, M. *et al.* The physiological performance and immune responses of juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) to stocking density and hypoxia stress. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 36, p. 325-335, 2014.
- OECD. **Fish acute toxicity test**. Adopted by the Council on 17<sup>th</sup> July 1992. 9 p. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 203).
- OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. **Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo**. Guaíba: Ed. Agropecuária, 1998. 211 p.
- R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 13 julho 2020.
- REDA, R. M. *et al.* Effect of oxytetracycline and florfenicol as growth promoters on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 39, p. 241-248, 2013.
- RIGOS, G. *et al.* Potential drug (oxytetracycline and oxolinic acid) pollution from mediterranean sparid fish farms. **Aquatic Toxicology**, v. 69, p. 281-288, 2004.
- RIGOS, G.; NENGAS, I.; ALEXIS, M. Oxytetracycline (OTC) uptake following bath treatment in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, v. 261, n.4, p. 1151-1155, 2006.
- RIGOS, G.; TROISI, G. M. Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: A synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 15, p. 53-73, 2005.
- RIJKERS, G. T. *et al.* The immune system of Cyprinid fish. Te immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in Carp (*Cyprinus carpio* L.). **Aquaculture**, v. 19, p. 177-189, 1980.
- RODRIGUES, S. *et al.* Oxytetracycline effects in specific biochemical pathways of detoxification, neurotransmission and energy production in *Oncorhynchus mykiss*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 164, p. 100-108, 2018.



SHRIVASTAVA, S.; THAKUR, U.; SHRIVASTAVA, L. Behavioural Responses of *Tilapia mossambica* to Water Polluted with Fly Ash from Coal: a Laboratory Study. **International Journal of Biology**, v. 3, n. 1, p. 153-160, 2011.

SWANN, L. **A Fish farmer's guide to understanding water quality**. Illinois, Indiana: Sea Grant Program; West Lafayette: Department of Animal Sciences, Purdue University, 1997. 8 p.

TAKESHITA, N. A. *et al.* Avaliação da toxicidade aguda de oxitetraciclina para pós-larvas de tilápia-do-nilo. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13., 2019, Campinas. **Anais...** Jaguariúna: Embrapa, 2019. p. 1-11.

USEPA. **US A comparative analysis of ecological risks from pesticides and their uses**: background, methodology and case study. Washington: Environmental Fate and Effects Division, Office of Pesticide Programs, 1998. 105 p.

WEIS, J. S. Effects of Contaminants on Behavior: Biochemical Mechanisms and Ecological Consequences. **BioScience**, Uberlândia, v. 51, n. 3, p. 209-217, 2001.

YOUSEFI, M. *et al.* Serum biochemical and non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to dietary nucleotide and chronic stress. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 1417-1425, 2016.