



## ATA DE DEFESA PÚBLICA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos oito dias do mês de fevereiro de 2022, às 8:30 horas, em sessão pública no ambiente virtual <https://meet.google.com/mgc-dvok-idm> do Instituto de Biodiversidade e Florestas da UFOPA, na presença da Banca Examinadora presidida pelo(a) Professor(a) Gustavo da Silva Claudiano e composta pelos examinadores:

1. Alberto Conceição Figueira da Silva
2. Larissa Andréia Ferreira Sampaio

A aluna IANI TEIXEIRA CORRÊA apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado de “USO DE PROBIÓTICO MULTI-ESPÉCIES DURANTE AEROMONOSE EM *Colossoma macropomum* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: DL<sub>50</sub> E MORTALIDADE” como requisito curricular indispensável para a integralização do Curso de Bacharelado em Zootecnia. Após reunião em sessão reservada, a Banca Examinadora deliberou e decidiu pela \* **Aprovação** do referido trabalho com a nota final 9,3 divulgando o resultado formalmente ao aluno(a) e demais presentes e eu, na qualidade de Presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais examinadores e pelo aluno.

Gustavo da Silva Claudiano

Alberto Conceição Figueira F. Silva  
Assistente em Administração  
SIAPE: 2104330

Alberto Conceição Figueira da Silva

Larissa Andréia Ferreira Sampaio  
Larissa Andréia Ferreira Sampaio



## **ORIENTAÇÕES GERAIS PARA AVALIAÇÃO DOS TRABALHOS DE ORIENTAÇÃO PARA BANCAS DE TCC**

Os membros da banca examinadora deverão observar as seguintes instruções:

1. O aluno será avaliado em duas modalidades - avaliação da apresentação oral e análise do trabalho escrito - por uma banca examinadora composta por três membros. Somente os membros titulares atribuirão nota ao trabalho, numa escala de 0 a 10,0;
2. No trabalho escrito, cada membro deve avaliar: organização sequencial, argumentação, profundidade do tema, relevância e contribuição acadêmica da pesquisa, correção gramatical, clareza, apresentação estética e adequação aos aspectos formais e às normas da ABNT;
3. Na apresentação oral, cada membro deve avaliar: domínio do conteúdo, organização da apresentação, habilidades de comunicação e expressão, capacidade de argumentação, uso dos recursos audiovisuais, correção gramatical e apresentação estética do trabalho;
4. Recomenda-se que a defesa do TCC siga a seguinte distribuição de tempo:
  - 15 (quinze) a 30 (trinta) minutos para a apresentação oral pelo candidato,
  - Até 15 (quinze) minutos de arguição para cada membro da banca examinadora e
  - Até 15 (quinze) minutos para avaliação e deliberação da banca sobre o trabalho, divulgação do conceito (aprovado ou reprovado) e encerramento.
5. A nota final de cada examinador será a soma do trabalho escrito (com valor de 0 a 7,0 - zero a sete) e da apresentação oral (com valor de 0 a 3,0 - zero a três), totalizando, assim, nota 10,0 (dez). A média final será calculada pela soma das duas notas finais e divisão por dois. É considerado aprovado no Trabalho de Conclusão do Curso o aluno com média final igual ou superior a 6,0 (seis).
6. A avaliação será documentada em ficha de avaliação final e fichas individuais, onde devem constar as notas que cada examinador atribuiu ao aluno.
7. Ao término da defesa, o orientador deverá entregar as fichas de avaliação e a ata de defesa assinadas à Secretaria Acadêmica.
8. A nota final do aluno somente deve ser atribuída ao aluno, via SIGAA mediante a entrega da versão final ao Orientador, com as correções sugeridas pela banca, no prazo máximo de 07 (sete) dias corridos após a defesa, desde que não ultrapasse a data estabelecida pela secretária acadêmica.
9. A identificação de qualquer tipo de plágio ou a não adoção das modalidades e do formato de TCC do IBEF resulta em reprovação do trabalho com nota 0 (zero).

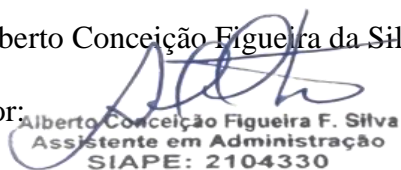


## FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DA BANCA EXAMINADORA DE TCC

<b>Avaliação do TCC Escrito</b>	
<b>Apresentação do tema</b> Título do trabalho adequado ao objetivo proposto	(até 0,5 ponto)  0,4
<b>Introdução</b> <b>Referencial teórico (em caso de monografia)</b> Apresenta e contextualiza o tema, apresenta os objetivos que foram traçados para desenvolver o TCC; apresentado os elementos teóricos de base da área do conhecimento investigada, bem como a definição dos termos, conceitos e estado da arte pertinentes ao referido campo do TCC.	(até 1,5 pontos)  0,4
<b>Metodologia</b> Descreve os procedimentos metodológicos; descreve com detalhes suficientes a proposta desenvolvida. Realiza avaliação condizente com os objetivos traçados para o trabalho.	(até 1,5 pontos)  1,5
<b>Apresentação e discussão dos resultados</b> Descreve com detalhes suficientes os resultados alcançados, discutindo com outros autores.	(até 2,5 pontos)  2,4
<b>Conclusões ou Considerações finais</b> <b>Referências bibliográficas</b> Apresenta sua síntese do trabalho, de modo a expressar a compreensão sobre o assunto que foi objeto desse TCC e a sua contribuição para o tema. O texto apresenta a totalidade das fontes de informação citadas. Literatura apresentada dentro das normas ABNT.	(até 1 ponto)  1
<b>Nota final da avaliação do trabalho escrito</b> (soma das notas, máximo 7 pontos)	5,7
<b>Avaliação da apresentação oral e arguição</b>	
<b>Estruturação e ordenação do conteúdo da apresentação</b>	(até 0,5 pontos)  0,5
<b>Clareza e fluência na exposição das ideias</b>	(até 0,5 pontos)  0,4
<b>Domínio acerca do tema desenvolvido</b> (embasamento teórico)	(até 1 pontos)  1
<b>Qualidade dos slides e uso dos recursos audiovisuais</b> (texto; figuras, tabelas, gráficos legíveis, etc.)	(até 1,0 pontos)  1
<b>Nota final da apresentação oral</b> (soma das notas, máximo 3 pontos)	2,9

Nome do avaliador: Alberto Conceição Figueira da Silva

Assinatura do Avaliador:

  
Alberto Conceição Figueira F. Silva  
Assistente em Administração  
SIAPE: 2104330

Santarém, \_08\_ de 02 de 2022



## **ORIENTAÇÕES GERAIS PARA AVALIAÇÃO DOS TRABALHOS DE ORIENTAÇÃO PARA BANCAS DE TCC**

Os membros da banca examinadora deverão observar as seguintes instruções:

1. O aluno será avaliado em duas modalidades - avaliação da apresentação oral e análise do trabalho escrito - por uma banca examinadora composta por três membros. Somente os membros titulares atribuirão nota ao trabalho, numa escala de 0 a 10,0;
2. No trabalho escrito, cada membro deve avaliar: organização sequencial, argumentação, profundidade do tema, relevância e contribuição acadêmica da pesquisa, correção gramatical, clareza, apresentação estética e adequação aos aspectos formais e às normas da ABNT;
3. Na apresentação oral, cada membro deve avaliar: domínio do conteúdo, organização da apresentação, habilidades de comunicação e expressão, capacidade de argumentação, uso dos recursos audiovisuais, correção gramatical e apresentação estética do trabalho;
4. Recomenda-se que a defesa do TCC siga a seguinte distribuição de tempo:
  - 15 (quinze) a 30 (trinta) minutos para a apresentação oral pelo candidato,
  - Até 15 (quinze) minutos de arguição para cada membro da banca examinadora e
  - Até 15 (quinze) minutos para avaliação e deliberação da banca sobre o trabalho, divulgação do conceito (aprovado ou reprovado) e encerramento.
5. A nota final de cada examinador será a soma do trabalho escrito (com valor de 0 a 7,0 - zero a sete) e da apresentação oral (com valor de 0 a 3,0 - zero a três), totalizando, assim, nota 10,0 (dez). A média final será calculada pela soma das duas notas finais e divisão por dois. É considerado aprovado no Trabalho de Conclusão do Curso o aluno com média final igual ou superior a 6,0 (seis).
6. A avaliação será documentada em ficha de avaliação final e fichas individuais, onde devem constar as notas que cada examinador atribuiu ao aluno.
7. Ao término da defesa, o orientador deverá entregar as fichas de avaliação e a ata de defesa assinadas à Secretaria Acadêmica.
8. A nota final do aluno somente deve ser atribuída ao aluno, via SIGAA mediante a entrega da versão final ao Orientador, com as correções sugeridas pela banca, no prazo máximo de 07 (sete) dias corridos após a defesa, desde que não ultrapasse a data estabelecida pela secretária acadêmica.
9. A identificação de qualquer tipo de plágio ou a não adoção das modalidades e do formato de TCC do IBEF resulta em reprovação do trabalho com nota 0 (zero).



## FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DA BANCA EXAMINADORA DE TCC

<b>Avaliação do TCC Escrito</b>	
<b>Apresentação do tema</b> Título do trabalho adequado ao objetivo proposto	(até 0,5 ponto)  0,5
<b>Introdução</b> <b>Referencial teórico (em caso de monografia)</b> Apresenta e contextualiza o tema, apresenta os objetivos que foram traçados para desenvolver o TCC; apresentado os elementos teóricos de base da área do conhecimento investigada, bem como a definição dos termos, conceitos e estado da arte pertinentes ao referido campo do TCC.	(até 1,5 pontos)  1,3
<b>Metodologia</b> Descreve os procedimentos metodológicos; descreve com detalhes suficientes a proposta desenvolvida. Realiza avaliação condizente com os objetivos traçados para o trabalho.	(até 1,5 pontos)  1,4
<b>Apresentação e discussão dos resultados</b> Descreve com detalhes suficientes os resultados alcançados, discutindo com outros autores.	(até 2,5 pontos)  2,2
<b>Conclusões ou Considerações finais</b> <b>Referências bibliográficas</b> Apresenta sua síntese do trabalho, de modo a expressar a compreensão sobre o assunto que foi objeto desse TCC e a sua contribuição para o tema. O texto apresenta a totalidade das fontes de informação citadas. Literatura apresentada dentro das normas ABNT.	(até 1 ponto)  0,8
<b>Nota final da avaliação do trabalho escrito</b> (soma das notas, máximo 7 pontos)	6,2
<b>Avaliação da apresentação oral e arguição</b>	
<b>Estruturação e ordenação do conteúdo da apresentação</b>	(até 0,5 pontos) 0,5
<b>Clareza e fluência na exposição das ideias</b>	(até 0,5 pontos) 0,5
<b>Domínio acerca do tema desenvolvido</b> (embasamento teórico)	(até 1 pontos) 0,9
<b>Qualidade dos slides e uso dos recursos audiovisuais</b> (texto; figuras, tabelas, gráficos legíveis, etc.)	(até 1,0 pontos) 1,0
<b>Nota final da apresentação oral</b> (soma das notas, máximo 3 pontos)	2,9

Nome do avaliador: Larissa Andréia Ferreira Sampaio

Assinatura do Avaliador: Larissa Andréia Ferreira Sampaio

Santarém, 08 de Fevereiro de 2022.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ  
REITORIA  
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

**1. Identificação do autor**

Nome completo: IANI TEIXEIRA CORRÊA

CPF: 030.890.172-02

RG: 7334537

Telefone: (93) 991549922

E-mail: ianicorrea.ic@gmail.com

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página de rosto?

( X ) Sim ( ) Não

**2. Identificação da obra**

( ) Monografia ( X ) TCC ( ) Dissertação ( ) Tese ( ) Artigo científico ( ) Outros: \_\_\_\_\_

Título da obra: USO DE PROBIÓTICO MULTI-ESPÉCIES DURANTE AEROMONOSE EM *Colossoma macropomum* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: DL50 E MORTALIDADE

Programa/Curso de pós-graduação: Zootecnia

Data da conclusão: 08/02/2022.

Agência de fomento (quando houver): \_\_\_\_\_

Orientador: Gustavo da Silva Claudiano

E-mail: [claudianovet@yahoo.com.br](mailto:claudianovet@yahoo.com.br)

Co-orientador: \_\_\_\_\_

Examinadores: Msc. Alberto Conceição Figueira da Silva e Msc. Larissa Andreia Ferreira Sampaio

**3. Informação de disponibilização do documento:**

O documento está sujeito a patentes? ( ) Sim ( X ) Não

Restrição para publicação: ( ) Total ( ) Parcial ( X ) Sem restrição

Justificativa de restrição total\*: \_\_\_\_\_

**4. Termo de autorização**

Autorizo a Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) a incluir o documento de minha autoria, acima identificado, em acesso aberto, no Portal da instituição, no Repositório Institucional da Ufopa, bem como em outros sistemas de disseminação da informação e do conhecimento, permitindo a utilização, direta ou indireta, e a sua reprodução integral ou parcial, desde que citado o autor original, nos termos do artigo 29 da Lei nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, e da lei 12.527 de novembro de 2011, que trata da Lei de Acesso à Informação. Essa autorização é uma licença não exclusiva, concedida à Ufopa a título gratuito, por prazo indeterminado, válida para a obra em seu formato original.

Declaro possuir a titularidade dos direitos autorais sobre a obra e assumo total responsabilidade civil e penal quanto ao conteúdo, citações, referências e outros elementos que fazem parte da obra. Estou ciente de que todos os que de alguma forma colaboram com a elaboração das partes ou da obra como um todo tiveram seus nomes devidamente citados e/ou referenciados, e que não há nenhum impedimento, restrição ou limitação para a plena validade, vigência e eficácia da autorização concedida.

Santarém, 14/02/2022.

*Iani Teixeira Corrêa*  
Assinatura do autor

**5. Tramitação no curso**

**Secretaria / Coordenação de curso**

Recebido em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

Responsável: \_\_\_\_\_

Siape/Carimbo



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ  
INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE E FLORESTAS  
BACHARELADO EM ZOOTECNIA**

**IANI TEIXEIRA CORRÊA**

**USO DE PROBIÓTICO MULTI-ESPÉCIES DURANTE AEROMONOSE EM  
*Colossoma macropomum* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: DL<sub>50</sub> E MORTALIDADE**

**SANTARÉM-PA**

**2022**

**IANI TEIXEIRA CORRÊA**

**USO DE PROBIÓTICO MULTI-ESPÉCIES DURANTE AEROMONOSE EM  
*Colossoma macropomum* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: DL<sub>50</sub> E MORTALIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de graduação em Zootecnia para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia, Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas.  
Orientador: Prof. Dr. Gustavo da Silva Claudiano

**SANTARÉM-PA**

**2022**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA**

---

C824u    Corrêa, Iani Teixeira  
      Uso de probióticos multi-espécies durante aeromonose em *colossoma macropomum* em sistema de bioflocos: DL<sub>50</sub> e mortalidade . / Iani Teixeira Corrêa – Santarém, 2022.  
      26 p. : il.  
      Inclui bibliografias.

      Orientador: Gustavo da Silva Claudiano  
      Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Floresta , Bacharelado em Zootecnia.

1. aquicultura . 2. peixes nativos. 3. peixes redondos. 4. piscicultura. 5. manejo. I. Claudiano, Gustavo da Silva, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 639.31

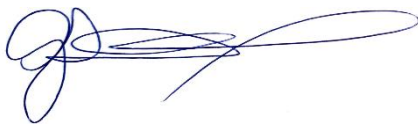
**IANI TEIXEIRA CORRÊA**

**USO DE PROBIÓTICO MULTI-ESPÉCIES DURANTE AEROMONOSE EM  
*Colossoma macropomum* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: DL<sub>50</sub> E MORTALIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de graduação em Zootecnia para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia, Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas.  
Orientador: Prof. Dr. Gustavo da Silva Claudiano

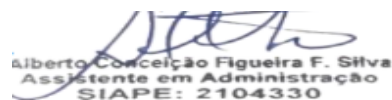
Conceito: 9,3

Data de Aprovação: 08/02/2022



---

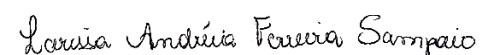
Prof. Dr. Gustavo da Silva Claudiano  
Universidade Federal do Oeste do Pará



Alberto Conceição Figueira F. Silva  
Assistente em Administração  
SIAPE: 2104330

---

Msc. Alberto Conceição Figueira da Silva  
Universidade Federal do Oeste do Pará



---

Msc. Larissa Andreia Ferreira Sampaio  
Universidade Federal do Oeste do Pará

Dedico a Deus criador de todas as coisas,  
Aos meus queridos e amados pais.

## AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente à Deus pelo dom da vida e por ter me dado forças para não desistir e conseguir concluir essa etapa da minha jornada. Agradeço minha mãe Maria de Fátima, meu pai Alemar, minha irmã Ingrid e minha sobrinha Maria Laura por nunca me abandonarem e me incentivarem a cada dia, sempre acreditando e torcendo por mim. Amo vocês.

Ao meu querido Roberto, por todo o apoio e palavras de incentivo, não me deixando desanimar mesmo nos momentos difíceis.

Não poderia esquecer de agradecer aos meus amigos queridos, em especial Ana Maria, Eloise Marcelle, Maévem Campos (que além de amiga foi minha companheira nessa árdua jornada, tivemos momentos de risos e choros que hoje ficam como uma lembrança em nossas vidas) e por todo o carinho e companheirismo que recebi, muito obrigada!

Ao Lucas Alvarenga por toda a paciência e ajuda no decorrer do meu trabalho, mesmo estando muito atarefado. Muito obrigada!

Agradeço ao Laboratório Múltiplo para a Produção de Organismos Aquáticos (LAMPOA) pelo fornecimento dos animais e espaço para desenvolver o experimento.

Agradeço aos membros da banca por aceitarem o convite de avaliar meu trabalho.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo da Silva Claudiano por ter aceitado me orientar e pela oportunidade de ter novos conhecimentos.

A todos, que contribuíram de alguma forma, minha sincera gratidão!

## RESUMO

No Brasil, o *Colossoma macropomum* destaca-se como a principal espécie nativa, apresentando resultados positivos na aquicultura, tornando-se necessário a busca por otimização do processo produtivo. Para isto, são utilizados produtos, denominados probióticos, visando melhorar a resistência imunológica, intensificando o crescimento e um conseqüente ganho na produção. Este trabalho objetivou avaliar os efeitos do uso do probiótico multiespécies em tambaqui durante a aeromonose utilizando dois sistemas: água clara e de bioflocos. Primeiramente os animais passaram por um período de aclimação e posteriormente alocados em tanques de polietileno com volume útil de 300 ml de água. Foram utilizados 192 peixes, divididos em 4 tratamentos de criação (n=10), sendo eles: G1 – tambaqui em sistema bioflocos controle/sem probiótico (BFT-CTL); G2 – tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na água (BFT-PA); G3 – tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na ração (BFT-PR); G4 – tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na água e na ração (BFT-PRA); G5 – tambaqui em sistema de recirculação de água controle/sem probiótico (SRA-CTL). A cepa de *Aeromonas hydrophila* utilizada foi isolada de peixes naturalmente infectados que foram necropsiados. Para avaliar a eficácia da suplementação do probiótico multicepas e do efeito destes nos sistemas de produção utilizou-se 56 juvenis de tambaqui *C. macropomum*, SRA ( $326,27 \pm 19,38$ ) e BFT ( $179,44 \pm 27,15$ ). Os animais foram divididos em dois grupos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), um deles recebeu 0,5 mL de solução salina esterilizada a 0,65% (grupo controle) e o outro recebeu a 100 microlitros CFU/mL correspondente DL50% mesmo veículo e volume. A partir de 48 horas após a inoculação via celomática de *A. hydrophila* foram evidenciadas petéquias e sufusões evoluindo para ulcerações cutâneas e letargia nos tambaquis. O sistema de bioflocos mostrou-se menos eficiente do que o sistema água clara em relação à sobrevivência de juvenis de tambaqui desafiados com *Aeromonas hydrophila*. Verificou-se que o grupo G4 – tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na água e na ração (BFT-PRA), apresentou a menor mortalidade em relação aos demais peixes criados em BFT. No presente estudo a suplementação apenas na água ou na ração não se mostrou eficiente para aumentar a imunidade dos animais frente uma infecção bacteriana.

**Palavras-chave:** Aquicultura, Peixes Nativos, Peixes Redondos, Piscicultura, Manejo

## ABSTRACT

In Brazil, *Colossoma macropomum* stands out as the main native species, showing positive results in aquaculture, making it necessary to search for optimization of the production process. For this, products called probiotics are used, aiming to improve immune resistance, intensifying growth and a consequent gain in production. This work aimed to evaluate the effects of the use of multispecies probiotic in tambaqui during aeromonosis using two systems: clear water and biofloc. First, the animals underwent a period of acclimatization and were later placed in polyethylene tanks with a useful volume of 300 ml of water. A total of 192 fish were used, divided into 4 rearing treatments (n=10), as follows: G1 – tambaqui in biofloc control/without probiotic system (BFT-CTL); G2 – tambaqui in biofloc + probiotic system in water (BFT-PA); G3 – tambaqui in biofloc system + probiotic in the diet (BFT-PR); G4 – tambaqui in biofloc system + probiotic in water and feed (BFT-PRA); G5 – tambaqui in a control/no probiotic water recirculation system (SRA-CTL). The *Aeromonas hydrophila* strain used was isolated from naturally infected fish that were necropsied and brain, kidney and blood fragments were aseptically collected for bacteriological culture. To evaluate the effectiveness of multistrain probiotic supplementation and their effect on production systems, 56 juvenile tambaqui *C. macropomum*, SRA ( $326.27 \pm 19.38$ ) and BFT ( $179.44 \pm 27.15$ ) were used. The animals were divided into two groups in a completely randomized design (DIC), one of them received 0.5 mL of 0.65% sterile saline solution (control group) and the other received 100 microliters CFU/mL corresponding to LD50% of the same vehicle. and volume. From 48 hours after inoculation via coelomic of *A. hydrophila*, petechiae and suffusions were evidenced, evolving to cutaneous ulcerations and lethargy in tambaquis. The biofloc system was less efficient than the Água clara system in relation to the survival of juvenile tambaqui challenged with *Aeromonas hydrophila*. It was verified that the G4 group – tambaqui in biofloc system + probiotic in water and in the feed (BFT-PRA), presented the lowest mortality in relation to the other fish raised in BFT. In the present study, supplementation only with water or feed was not efficient to increase the animals' immunity against a bacterial infection.

**Keywords:** Aquaculture, Native Fish, Round Fish, Fish Farming, Management

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Comparação da sobrevivência entre os sistemas de cultivo após indução da aeromonose.....	17
Figura 2 - Curva de mortalidade em <i>Colossoma macropomum</i> (N = 8) criados em sistema de bioflocos e suplementados com probióticos inoculados com <i>Aeromonas hydrophila</i> durante 10 dias.....	18

## **LISTA DE SIGLAS**

CTL - Controle

PA - Probiótico na água

PR - Probiótico na ração

PRA - Probiótico na ração e água

SRA - Sistema de recirculação de água

DL 50 - Dose letal 50%

LAMPOA - Laboratório múltiplo para a produção de organismos aquáticos

HPI - Horas pós infecção

DIC - Delineamento inteiramente casualizado

UFG - Unidade formadora de colônia

## LISTA DE ABREVIATURA

ml – Mililitro

g – Grama

kg – Quilograma

m<sup>2</sup> – Metro quadrado

l – Litro

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

ng – Nanograma

RNA - Ácido ribonucleico

μL - Microlitro

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>11</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>19</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>22</b>
<b>A. NORMAS DA REVISTA CIÊNCIA BRASILEIRA ANIMAL .....</b>	<b>22</b>

## **USO DE PROBIÓTICO MULTI-ESPÉCIES DURANTE AEROMONOSE EM *Collossoma macropomum* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: DL<sub>50</sub> E MORTALIDADE**

### **USE OF MULTI-SPECIES PROBIOTICS DURING AEROMONOSIS IN *Collossoma macropomum* IN A BIOFLOCK SYSTEM: LD<sub>50</sub> AND MORTALITY**

#### **Resumo**

O Tambaqui é a principal espécie nativa na aquicultura, na busca por otimização do processo produtivo são utilizados produtos denominados probióticos, melhorando a resistência imunológica. Este trabalho objetivou avaliar os efeitos do uso do probiótico multiespécies em tambaqui durante a aeromonose utilizando dois sistemas: água clara e de bioflocos. Foram utilizados 192 peixes, divididos em 4 tratamentos de criação: tambaqui em sistema bioflocos controle/sem probiótico, tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na água, tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na ração, tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na água e na ração, tambaqui em sistema de recirculação de água controle/sem probiótico. A cepa de *Aeromonas hydrophila* utilizada foi isolada de peixes naturalmente infectados. Para avaliar a eficácia da suplementação do probiótico multicepas utilizou-se 56 juvenis de tambaqui *C. macropomum*, os animais foram divididos em dois grupos, um deles recebeu 0,5 mL de solução salina esterilizada a 0,65% e o outro recebeu 0,1mL correspondente DL<sub>50</sub>%. A partir de 48 horas após a inoculação via celomática foram evidenciadas petéquias, sufusões e letargia nos tambaquis. O sistema de bioflocos mostrou-se menos eficiente do que o sistema água clara em relação à sobrevivência de juvenis de tambaqui desafiados com *Aeromonas hydrophila*. Verificou-se que o grupo tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na água e na ração, apresentou a menor mortalidade em relação aos demais peixes criados em BFT. No presente estudo a suplementação apenas na água ou na ração não se mostrou eficiente para aumentar a imunidade dos animais frente uma infecção bacteriana.

**Palavras-chave:** Aquicultura, Peixes Nativos, Peixes Redondos, Piscicultura, Manejo

#### **Abstract**

Tambaqui is the main native species in aquaculture, in the search for optimization of the production process, products called probiotics are used, improving immune resistance. This work aimed to evaluate the effects of the use of multispecies probiotic in tambaqui during aeromonosis using two systems: clear water and biofloc. A total of 192 fish were used, divided into 4 rearing treatments: tambaqui in biofloc system control/without probiotic, tambaqui in biofloc system + probiotic in water, tambaqui in biofloc system + probiotic in the feed, tambaqui in biofloc system + probiotic in water and feed, tambaqui in control/without probiotic water recirculation system. The *Aeromonas hydrophila* strain used was isolated from naturally infected fish. To evaluate the effectiveness of multistrain probiotic supplementation, 56 juvenile tambaqui *C. macropomum* were used, the animals were divided into two groups, one of them received 0.5 mL of sterilized saline solution at 0.65% and the other received 0.1mL corresponding LD<sub>50</sub>%. From 48 hours after inoculation via coelomic petechiae, suffusions and lethargy were observed in tambaquis. The biofloc system was less efficient than the Água clara system in relation to the survival of juvenile tambaqui challenged with *Aeromonas hydrophila*.

It was found that the tambaqui group in biofloc + probiotic system in water and in the feed had the lowest mortality compared to the other fish raised in BFT. In the present study, supplementation only with water or feed was not efficient to increase the animals' immunity against a bacterial infection.

**Keywords:** Aquaculture, Native Fish, Round Fish, Fish Farming, Management

## Introdução

Segundo Camargo e Pouey (2005) o desenvolvimento de tecnologias de insumos na produção, as grandes áreas de lâmina d'água disponíveis e pequena variação de temperatura anual são fatores que vem contribuindo para o crescimento da atividade no país. Dados da Associação Brasileira da Piscicultura mostram que em 2020 o Brasil chegou a produzir cerca de 802.930 toneladas do produto, com receita de 8 milhões sendo a espécie tilápia do Nilo a principal criada em cativeiro com o alta de 12,50% em relação ao ano anterior, atingindo um total de 486.155 toneladas produzidas, com destaque de produção na região Sul do país seguida do tambaqui com uma queda de 3,2% na sua produção em relação ao ano, produzindo 278.671 toneladas do produto.

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, é uma espécie nativa dos rios Amazonas, sendo a espécie de peixe nativo mais produzida no Brasil. A rusticidade favorece a criação tanto em sistemas semi-intensivos e sistemas intensivo (Buckup *et al.*, 2007). Apesar disso, a criação intensiva, favorece o aparecimento de parasitas, bactérias, platelmintos e nematoides, sendo estes os principais causadores de doenças nesses animais, como: hidropisia, septicemia, oodinirose, ictiofitirase e outros (Pavanelli *et al.*, 2008). Esses microrganismos podem ser encontrados tanto nas fontes naturais de água quanto no solo e na manipulação e transporte desses animais. O regime de confinamento pode desencadear um estágio de estresse crônico nos peixes, tornando-os imunossuprimidos e menos resistentes, com um aumento nos casos de doenças bacterianas, assim como a introdução e disseminação de novas enfermidades (Austin & Austin, 1987).

Entre as infecções bacterianas as principais enfermidades são causadas pela *Aeromonas hydrophila* que é uma bactéria anaeróbica facultativa, gram-negativa não encapsulada com aproximadamente 1,0 – 3,5 µm de comprimento, possuindo mobilidade devido a presença de flagelos e não apresentando a capacidade de produzir esporos, havendo ampla distribuição em peixes oceânicos e continentais (Graf, 1999). Além de ser patogênica para peixes, também tem

sido encontrada em infecções de anfíbios, répteis e mamíferos incluindo seres humanos (Altwegg e Geiss, 1989).

Dentre os sinais clínicos da doença podem ser citados o escurecimento da pele, ascite, hemorragias externas e irregulares na superfície do corpo e na base das nadadeiras (Roberts 1981). Além disso, na necropsia, os órgãos internos e as vísceras encontram-se cobertos de hemorragias e lesões, o rim e o baço se apresentam um tamanho alterado com a presença de um líquido semifluido, graves lesões na pele, edemas na derme, ulceração na epiderme e necroses hemorrágicas que podem alcançar o músculo. Os animais afetados normalmente morrem entre 2 e 10 dias do início dos sinais clínicos (Boijink e Brandão, 2001). A doença é transmitida horizontalmente a partir das excretas dos peixes ou lesões da pele (Aoki, 1999).

Neste contexto, busca-se maneiras de controlar essa enfermidade, com alternativas ao uso de drogas antimicrobianas. O emprego de compostos à base de microrganismos vivos tem sido adotado como prática sustentável, minimizando a utilização de produtos químicos e promovendo a sanidade dos animais cultivados (Barros, 2012). O termo probiótico é oriundo do latim “*pro bios*” e significa em favor da vida (Gastesoup, 1999). São organismos e substâncias de origem bacteriana que contribuem para o equilíbrio da flora intestinal favorecendo seu crescimento e maximizando a resistência a doenças.

Segundo Ribeiro *et al.* (2008), o modo de ação dos probióticos se dá através da exclusão competitiva que é a incapacidade de uma população de microrganismos se estabelecer no intestino animal devido a presença de outras populações desejáveis, favorecendo o equilíbrio microbiano reduzindo a competição de nutrientes.

Dentre as alternativas utilizadas para reduzir os volumes de água visando diminuir o desperdício desse recurso e melhorar a saúde animal, destaca-se o sistema de bioflocos. Esse sistema foi desenvolvido visando melhorar o controle ambiental da produção através do tratamento de dejetos e caracteriza-se como partículas orgânicas que permanecem em suspensão na água ou aderidas às paredes dos tanques ou viveiros de produção. Os flocos são formados por fitoplâncton, zooplâncton, restos de organismos mortos, protozoários, cianobactérias, pequenos metazoários, excrementos e formas larvais de invertebrados (Hargreaves, 2013). Essas partículas de material orgânico servem como fonte de crescimento para uma série de organismos como protozoários, fungos, rotíferos, oligoquetos e uma grande diversidade de microalgas e bactérias heterotróficas (Vicente, 2014).

Assim, o presente trabalho objetivou avaliar a taxa de mortalidade em juvenis de *Colossoma macropomum* suplementados com probiótico e desafiados com *Aeromonas hydrophila* no sistema de bioflocos (BFT) e, na comparação BFT x sistema de recirculação de água (SRA).

## Material e Métodos

### 2.1 Peixes e acondicionamento

Inicialmente os animais passaram por um período de aclimação e posteriormente foram alocados em tanques de polietileno com volume útil de 300 ml de água no Laboratório Múltiplo para a Produção de Organismos Aquáticos (LAMPOA). Foram utilizados 192 peixes, divididos em 4 tratamentos de criação (n=10), sendo eles: G1 – tambaqui em sistema bioflocos controle/sem probiótico (BFT-CTL); G2 – tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na água (BFT-PA); G3 – tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na ração (BFT-PR); G4 – tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na água e na ração (BFT-PRA); G5 – tambaqui em sistema de recirculação de água controle/sem probiótico (SRA-CTL).

As cepas utilizadas no probiótico foram: *Bacillus subtilis* ( $3,4 \times 10^9$  UFC/g), *Lactobacillus plantarum* ( $1,2 \times 10^9$  UFC/g) e *Pediococcus acidilactici* ( $1,2 \times 10^9$  UFC/g); seguindo as recomendações fornecidas pelo fabricante (água: 1kg de probiótico/10,000m<sup>2</sup>, a cada 7 dias; ração: 2kg de probiótico/tonelada de ração), no período de 70 dias. Nos tratamentos de água clara foi realizado a renovação de 50% da água total (150 ml) e nos tratamentos com biofloco foi utilizado um inóculo de 20% (60 litros de biofloco maturado no laboratório).

Os animais receberam as dosagens recomendadas pelo fabricante do KERAACQUA® na ração (2,0 kg de probiótico/tonelada de ração) e na água foram utilizadas doses semanais de 1 kg para cada 10.000 m<sup>2</sup>. Diariamente, quatro vezes ao dia, os juvenis de tambaqui eram alimentados com ração comercial.

### 2.2 Determinação da Dose Letal 50% (DL50) e análise das alterações clínicas e mortalidade de tambaquís após a inoculação de *Aeromonas hydrophila*

A cepa de *Aeromonas hydrophila* utilizada foi isolada de peixes naturalmente infectados (GARCIA et al., 2009), que foram necropsiados e tiveram fragmentos de encéfalo, rim e sangue colhidos assepticamente para cultura bacteriológica. A identificação das colônias seguiu as recomendações de Popoff (1984) e Abeyta Júnior et al. (1990), acrescida de provas bioquímicas (Bactray (Bactray 3 - Laborclin®).

Uma amostra do cultivo foi utilizada para extração do DNA em “Genomic DNA purification kit (Wizard). Ao final, obteve-se a concentração de DNA de 1690,9 ng/μL, com relação 260/280 e 260/230 2,02 e 2,04, respectivamente. A amplificação do gene 16 S RNA ribossômico seguiu conforme metodologia utilizada por Claudiano *et al.* (2019). As sequências foram analisadas pelo algoritmo BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). O limite de similaridade foi de 98% na análise de BLAST e alcançou 99% de similaridade com *A. hydrophila*.

A patogenicidade da cepa de *A. hydrophila* foi verificada por três passagens seriadas e o reisolamento realizado em tambaquis, os quais foram inoculados com 1,0 mL de suspensão bacteriana ( $2,4 \times 10^8$  UFC / mL) por via de celoma. Após a terceira passagem, as bactérias reisoladas do tecido dos peixes foram submetidas aos mesmos testes de confirmação microbiana e molecular descritos acima (Claudiano *et al.*, 2019).

Após identificação da *Aeromonas hydrophila* realizou-se um experimento prévio utilizando 16 tambaquis em 4 tanques (n= 4 peixes / 100 L) para determinação da dose bacteriana letal para 50% dos peixes (DL50 = 100 microlitros CFU/ml) para a indução da sepse, correspondentes aos tubos de 0,5 a 8 da escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$ ;  $6,0 \times 10^8$ ;  $1,2 \times 10^9$ ;  $2,4 \times 10^9$ ) células bacterianas por mL (Claudiano *et al.*, 2019).

Os valores da DL 50-96h foram calculados pelo método “trimmed sperman Karber”, e foi de  $9 \times 10^8$ , limite inferior e superior em  $1,78 \times 10^9$  e  $4,65 \times 10^9$ , respectivamente. Para avaliar a eficácia da suplementação do probiótico multicepas e do efeito destes nos sistemas de produção foi induzida a aeromonose e realizou-se a análise da sobrevivência durante 10 dias. Para tanto, utilizou-se 56 juvenis de tambaqui *C. macropomum*, SRA ( $326,27 \pm 19,38$ ) e BFT ( $179,44 \pm 27,15$ ).

Os peixes foram anestesiados (solução de benzocaína 1:20.000, em álcool 98° a 0,1 g/mL) (Wedemeyer, 1970) até o plano cirúrgico de Ross e Ross (2008). Os animais foram divididos em dois grupos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), um deles recebeu 0,5 mL de solução salina esterilizada a 0,65% (grupo controle) e o outro recebeu a 100 microlitros

CFU/mL correspondente DL50% mesmo veículo e volume. Seguida, os peixes foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), para análise comparativa entre os sistemas de criação (G1 x G5) e na suplementação com probióticos (G1 – G4). Foram utilizados 8 animais para cada sistema / tratamentos em caixas de polietileno com volume útil de 200 L, cada animal correspondendo a uma unidade experimental. Após 240 horas pós-infecção (HPI), os peixes foram mortos por anestesia profunda.

Durante o desafio os peixes foram observados diariamente, suspendendo-se a alimentação e a limpeza das caixas, inspecionando-se o comportamento e sinais clínicos. Os peixes que apresentaram sinais clínicos irreversíveis foram mortos por aprofundamento do plano anestésico.

### 2.3 Análises estatísticas

O resultado da DL50% foi estimado utilizando o teste de Spearman-Kärber method (Hamilton et al., 1977). A sobrevivência seguiu o método de Kaplan-Meier (Kaplan & Meier, 1958; Lee, 1992; Kleinbaum, 1995) e a mortalidade foi realizada comparação das médias obtidas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Os dados foram analisados utilizando-se o programa estatístico GraphPad Prism 5 (Graph Pad Software In., San Diego, California, EUA).

## **Resultados e Discussões**

A partir de 48 horas após a inoculação via celomática de *A. hydrophila* foram evidenciadas petéquias e sufusões evoluindo para ulcerações cutâneas e letargia nos tambaquis criados em sistema bioflocos BFT-CTL, G1. A necropsia dos peixes que morreram e os após 10 dias de desafio, foi verificado grande quantidade de líquido serosanguinolento na cavidade celomática e congestão hepática. Os sinais clínicos e as alterações da necropsia foram mais severos nos animais G1 em comparação ao G5. A comparação contra aeromonose em sistemas BFT x AC são demonstrados na Figura 1, onde verificou-se que o tratamento BTF apresentou mortalidade acumulado de 42.8 % superior aos animais criados em água clara ( $p < 0.05$ ).

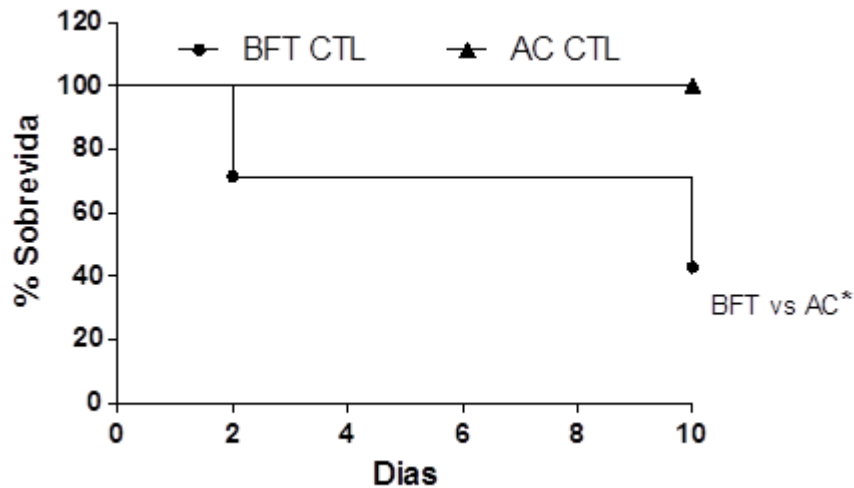


Figura 1 – Comparação da sobrevida entre os sistemas de cultivo após indução da aeromonose. Curva de sobrevivência em *C. macropomum* (N = 8) inoculados com *Aeromonas hydrophila*. BFT-CTL – Tambaqui em sistema bioflocos controle/sem probiótico (G1); SRA-CTL – Tambaqui em sistema de recirculação de água controle/sem probiótico (G5). \* Log rank test entre os grupos \* p < 0.05 em relação ao PRA.

O sistema de bioflocos mostrou-se menos eficiente do que o sistema água clara em relação à sobrevida de juvenis de tambaqui desafiados com *Aeromonas hydrophila*. A sobrevida maior nos tambaquis criados em SRA ( $326,27 \pm 19,38$ ), em relação aos criados em BFT ( $179,44 \pm 27,15$ ), provavelmente pela diferença de tamanho e peso dos animais.

O tamanho dos peixes influencia na qualidade de vida dos animais, os peixes maiores e robustos geralmente são mais resistentes. Antonello *et al.* (2009) realizando um estudo para avaliar o nível de resistência do peixe dourado (*Salminus brasiliensis*), observou que os animais que apresentavam o maior tamanho acabavam sendo mais resistentes à infecção causada por *Photobacterium damsela*, pois a pele dos peixes é a sua primeira barreira de proteção, em animais menores e mais jovens tende a ser mais fina e seu sistema imunológico menos desenvolvido.

Na Figura 2, verifica-se a mortalidade nos peixes suplementados com probióticos em sistema de bioflocos após o desafio com *A. hydrophila*. Verificou-se que o grupo G4 – tambaqui em sistema bioflocos + probiótico na água e na ração (BFT-PRA), apresentou a menor mortalidade em relação aos demais peixes criados em BFT. Nos tratamentos CTL, PA e PR, verificou-se mortalidade de 28,5 %; 42,8 %; 28,5 %, respectivamente, sem diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre esses grupos. Apesar disso, os animais do grupo (BFT-PRA) foi menor ( $p < 0,05$ ) em relação aos demais grupos desafiados.

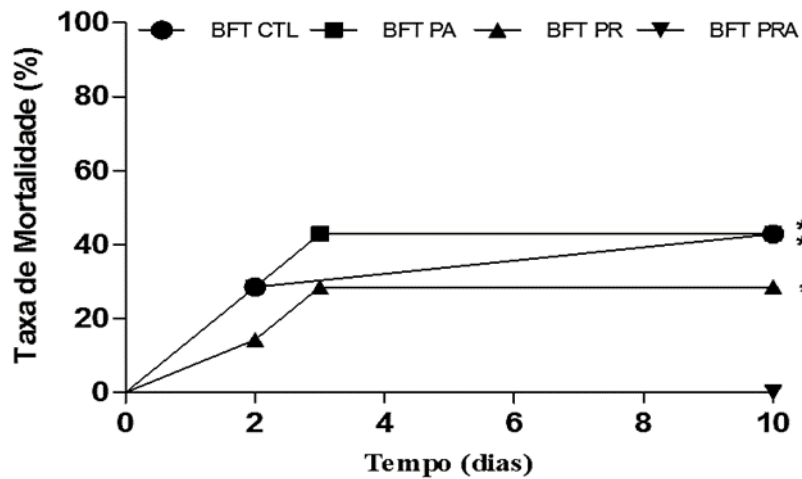


Figura 2. Curva de mortalidade em *Colossoma macropomum* (N = 8) criados em sistema de bioflocos e suplementados com probióticos inoculados com *Aeromonas hydrophila* durante 10 dias. \*  $p < 0.05$  pelo teste Tukey. Sistema bioflocos controle/ sem probiótico (BFT-CTL), Sistema bioflocos + probiótico na água (BFT-PA), Sistema bioflocos + probiótico na ração (BFT-PR), Sistema bioflocos + probiótico na água e ração (BFT-PRA).

Farias *et al.* (2018) testando os efeitos do probiótico a base *Bacillus cereus* fornecido ração na resistência de juvenis de *Colossoma macropomum* desafiados com *Aeromonas hydrophila*, notaram que os animais do controle com a injeção do patógeno apresentaram taxas de sobrevivência de 33,4%. Já os tratamentos que os animais foram submetidos as dietas com probiótico apresentaram 93,3%; 86,6% e 86,6% de sobrevivência.

Oshiro (2015) avaliando o uso de probióticos compostos por *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* frente a infecção por *Aeromonas hydrophila* em tilápias do nilo, verificou que os peixes alimentados com a dieta controle apresentaram a taxa de sobrevivência de 53,57% após o desafio com *Aeromonas hydrophila*.

Farias (2012) em seu estudo observou que pacus (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com a dieta sem o uso de probióticos apresentaram a maior taxa de mortalidade comparado aos animais que foram alimentados com as diferentes doses de probióticos. Apresentando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos suplementados e não suplementados com probiótico. Porém, não houve diferença significativa entre os grupos suplementados com diferentes doses de probiótico.

Cornélio (2009) observou em seu estudo depois de 96 horas dos animais infectados com 0,4 ml de *Aeromonas hydrophila* que houve uma significativa diminuição na mortalidade de peixes submetidos ao acondicionamento da água com probiótico com taxa de 56% para 33% em comparação com o grupo controle.

Entretanto, os resultados obtidos não descartam a eficiência das cepas de probióticos a base de *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* e *Pediococcus acidilactici* de promover uma melhora na sanidade e resistência dos peixes. Essa diferença nos resultados pode ser explicada pelo tempo de suplementação maior dos animais, a bactéria utilizada como base do probiótico e a forma que foi fornecido aos animais. No presente experimento, o probiótico na água e na ração apresentou o melhor resultado devido a quantidade de probiótico usada nesse grupo ter sido maior.

### Conclusão

A utilização de probióticos visam a melhoria da sanidade dos organismos aquáticos e é uma alternativa promissora na aquicultura, pois consegue atuar como um substituto de antimicrobianos químicos. Os estudos sobre a utilização de probióticos em peixes podem apresentar diversos resultados com diferentes respostas tanto nos parâmetros produtivos, como fisiopatológicos. Isso pode estar relacionado a diferentes espécies de bactérias utilizadas como probiótico. No presente estudo a suplementação apenas na água ou na ração não se mostrou eficiente para aumentar a imunidade dos animais frente uma infecção bacteriana.

### Referências

- ABEYTA JR, C.; KAYSNER, C. A.; WEKELL, M. M.; STOFF, R. F. Incidence of motile aeromonas from United States west coast shellfish growing estuaries. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 10, p. 849-855, 1990.
- ANTONELLO, J. et al. **Estimates of heritability and genetic correlation for body length and resistance to fish pasteurellosis in the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)**. *Aquaculture*, v. 298, n. 1-2, p. 29-35, 12/16/ 2009. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848609008497> >.
- Aoki, T. 1999 **Motile Aeromonads (*Aeromonas hydrophila*)**. In: Woo, P.T.K, Bruno, D.W. *Fish Diseases and disorders*. CAB INTERNATIONAL, p.427-476.
- AUSTIN, D.A. **Fish pathogens diseases in farmed and wild**. Chichester, UK: Ellis Horwood., p. 196-224. 1987
- ALY, S.M.; AHMED Y.A.G.; GHAREEB, A.A.A.; MOHAMED, M.M. 2008. **Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potencial probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections**. *Fish and Shellfish immunology*. 25:128-136.

ALTWEGG, M.; GEISS, H.K. 1989. *Aeromonas* as a human pathogen. **Critical Reviews in Microbiology**, 16 :253-286.

BOIJINK, C. L.; BRANDÃO, D. A. 2001 **Alterações histológicas e comportamentais provocadas pela inoculação de suspensão bacteriana (*Aeromonas hydrophila*) em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. *Ciência Rural*, 31(4): 687-694

BARROS, Carolina Notaro de. **Bactérias com potencial probiótico isoladas do intestino do Beijupirá (*Rachycentron canadum*) Linnaeus, 1766**. 2012. 58 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2012. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/bitstream/tede2/6252/2/Carolina%20Notaro%20de%20Barros.pdf>.

BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. A. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**, v. 1, 2007. Rio de Janeiro: Museu Nacional.

CAMARGO, S. G. O.; POUHEY, J. L. O. F. Aquicultura - um mercado em expansão. **Revista Brasileira de Agrociências**, 11: 393-396, 2005.

CORNÉLIO, F. H. G., **Avaliação da suplementação de dois probióticos no desempenho zootécnico, digestibilidade de nutrientes e resistência à infecção por patógeno em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2012

CORNÉLIO, Fernando Henrique Gomes; CARGNIN-FERREIRA, Eduardo; BORBA, Maude Regina de; MOURIÑO, José Luiz Pedreira; FERNANDES, Vitor Augusto Giatti; FRACALOSSO, Débora Machado. Crescimento, digestibilidade e resistência à infecção por patógeno em tilápia-do-nilo alimentada com probióticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.L.], v. 48, n. 8, p. 863-870, ago. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2013000800008>.

CLAUDIANO, G. S.; YUNIS-AGUINAGA, J.; MARINHO-NETO, F. A.; MIRANDA, R. L.; MARTINS, I. M.; OTANI, F. S.; MUNDIM, A.V.; MARZOCCHIMACHADO, C. M.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R. Sepsis by *Aeromonas hydrophila* in *Piaractus mesopotamicus* hematological and immune variables. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 88, p. 259-265, 2019. doi: 10.1016/j.fsi.2019.01.044.

FARIAS, Thaís Heloísa Vaz. **Probiótico na alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*): avaliação hematológica, bioquímica, imunológica e desempenho produtivo**. 2012. 81 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/86676>>.

FARIAS, A. E. N. de O.; DIAS, J. A. R.; SOUSA, N. da C.; COUTO, M. V. S. do; ABE, H. A.; SANTOS NETO, E.; SANTOS, R. T. V. S.; MENESES, J. O.; CUNHA, F. dos S.; MARIA, A. N.; CARNEIRO, P. C. F.; SOUSA, R. C. de; FUJIMOTO, R. Y. **Resistência de tambaquis suplementados com probiótico ao desafio com *Aeromonas hydrophila***. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA TABULEIROS COSTEIROS, 8., 2018, Aracaju. Anais... Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2018. Editor técnico: Ronaldo Souza Resende. p. 38-42.

GATESOUBE F.J. (1999) **The use of probiotics in aquaculture**. **Aquaculture** 180, 147-165.

GARCIA, F.; MORAES, F. R. **Hematologia e sinais clínicos de *Piaractus mesopotamicus* infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila***. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 31, p. 17-21, 2009.

Graf, J. 1999 **Diverse restriction fragment length polymorphism patterns of the PCR-amplified 16S rRNA genes in *Aeromonas veronii* strains and possible misidentification of *Aeromonas* species**. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(10):3194-3197

- HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C. & THURSTON, V., 1977, **Trimmed spearman-karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicity bioassays**. Environ. Sci. Technol., 7: 714-719
- HARGREAVES, J. A. **Biofloc production systems for aquaculture**. SRAC Publication. No. 4503, p. 12, April 2013.
- KAPLAN, E. L. & MEIER, P., 1958. **Non parametric estimation from incomplete observation**. Journal of the American Statistics Association, 53:457-481.
- KLEINBAUM, D. G., 1995. **Survival Analysis: A Self-Learning Text**. New York: Springer
- LEE, E. T., 1992. **Statistical Methods for Survival Data Analysis** 2<sup>nd</sup> Ed. New York: John Wiley & Sons.
- OSHIRO, E. **Prebiótico e probiótico na dieta de tilápia-do-nilo: perfil hematológico, resposta imune inata e desempenho zootécnico**. 2015
- PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, G. C. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3<sup>a</sup> Ed. Maringá: Eduem, 3338 p. 2008.
- POPOFF, M. Genus III. *Aeromonas* Kluyver and Van Niel. In: DRIEG, Noel R. (Ed), **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams and Wilkins, p. 545-548, 1984.
- RIBEIRO, P. A. P.; COSTA, L. S.; LOGATO, P. V. R. Probióticos na aquicultura. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n°1, p.837-846, 2008.
- ROBERTS, R.J. **Patologia de los peces** Madrid : Mundi-Prensa., 1981. 336p
- ROSS LG, ROSS B. **Anaesthetic and Sedative techniques for Aquatic Animals**. 2<sup>a</sup> ed. London: WilleyBlackwell Publishing; 2008
- VAL, A.; HONCZARK, A. **TAMBAQUI: Criando peixes na Amazônia**. 19a Ed. Manaus: INPA, 1995, 160p. cdd ISBN:85-211-0003-5.
- VICENTE, A. L. **Sistema de cultivo em meios heterotróficos (Bioflocos)**, 2014. Disponível em: <https://gia.org.br/portal/>. Acesso em: 15/01/2021.
- WEDEMEYER, G. Stress of anesthesia with MS 222 and benzocaine in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 27, p. 909-914, 1970. Doi: <https://doi.org/10.1139/Í70-097>

## ANEXO

### A. NORMAS DA REVISTA CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA

#### CONDIÇÕES PARA SUBMISSÃO

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e não está sendo avaliada para publicação por outra revista?
2. Os autores estão cientes de que deverão pagar a taxa de submissão e enviar o comprovante de pagamento juntamente com o manuscrito para dar início a tramitação? Veja no tópico Taxas (<https://www.revistas.ufg.br/vet/Fees>)
3. Os autores estão cientes de que são os responsáveis diretos pelo conteúdo de seu artigo?
4. Os arquivos para submissão estão em formatos editáveis: Microsoft Word, OpenOffice ou RTF e o arquivo não ultrapassa 4MB? Submissões com texto em PDF serão sumariamente arquivadas
5. Os nomes e afiliação dos autores foram excluídos do texto do artigo?(usar a opção Propriedades no Word para remover a identificação do autor. Veja instruções sobre esse procedimento em <https://support.office.com/pt-br/article/remover-dados-ocultos-e-informa%C3%A7%C3%B5es-pessoais-por-meio-da-inspe%C3%A7%C3%A3o-de-documentos-apresenta%C3%A7%C3%B5es-ou-pastas-de-trabalho-356b7b5d-77af-44fe-a07f-9aa4d085966f>)
6. O texto está formatado conforme as normas descritas em Diretrizes para Autores?
7. As linhas estão numeradas de maneira contínua e o texto paginado?
8. As Figuras, Gráficos e Tabelas estão inseridas no corpo do texto e em ordem de chamada? (E não no final do texto)
9. As referências e citações estão de acordo com o estilo Vancouver?
10. O Preenchimento do Cadastro deverá incluir todos os autores envolvidos, afiliação institucional, endereço de E-mail e o ORCID, não podendo ultrapassar o número máximo de nove (9) autores. O contato principal está identificado?

11. É obrigatório anexar a certificação de aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) para o caso de pesquisa com animais e pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) para as pesquisas que tenham aplicação de questionário a pessoas, bem como, a inserção do número dos protocolos respectivos no corpo do texto.

12. A Declaração de Anuência com a assinatura de todos os autores envolvidos está disponível para ser anexado nessa submissão?

13. Os autores estão cientes que, em caso de aprovação para publicação os próprios autores serão, obrigatoriamente, responsáveis pela tradução e revisão linguística que deverá ser feita por empresa certificada, preferencialmente, uma das indicadas pela CAB?

## DIRETRIZES PARA AUTORES

No processo de submissão, os autores devem considerar todos os itens listados em condições para submissão. **As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão rejeitadas de imediato.**

1. Alertamos que o cumprimento das diretrizes é um facilitador para o sucesso de sua submissão. Artigos que estejam fora das normas preconizadas serão rejeitados.
2. A Declaração de Anuência, **obrigatória**, deverá ser anexada no ato da submissão.

Deverá conter os nomes de todos os autores, bem como, a instituição afiliada de cada um e com uma breve descrição individual de como o autor participou da referida pesquisa. Veja o modelo da declaração:

## MODELO DE DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA

Os autores abaixo-assinados declaram, para fins de submissão de manuscrito ao periódico Ciência Animal Brasileira, da EVZ/UFG, que o artigo "Título" é original, inédito e não foi submetido a outro periódico.

**Carta de Anuência:** Os autores expressam sua anuência acerca da submissão, assim como da Política Editorial, das Diretrizes para Publicação e da Declaração de Direito Autoral, que se aplicarão em caso de aceite e posterior publicação do artigo. Ao lado de cada nome e assinatura, consta uma breve descrição de como o autor participou da referida pesquisa.

Cidade, data.

Autores

1. Nome, instituição afiliada, breve descrição da participação, Assinatura
2. Nome, instituição afiliada, breve descrição da participação, Assinatura
3. Nome, instituição afiliada, breve descrição da participação, Assinatura
4. Nome, instituição afiliada, breve descrição da participação, Assinatura
5. Nome, instituição afiliada, breve descrição da participação, Assinatura
6. Nome, instituição afiliada, breve descrição da participação, Assinatura

**Nota Científica e Relato de Caso:** não estão sendo aceitos no momento.

**Revisão de Literatura:** somente será publicada quando solicitada por convite e iniciativa do Conselho Editorial.

**Detecção de plágio:** todos os artigos submetidos a revista CAB serão previamente analisados por detectores eletrônicos de plágio. Os artigos reprovados serão minuciosamente analisados pela Equipe Editorial e, quando for o caso, informações adicionais serão requisitadas aos autores. Caso o plágio seja confirmado o artigo será sumariamente rejeitado.

**Texto:** O artigo submetido poderá ser enviado tanto redigido em Inglês quanto em Português. Como a revista CAB adota a publicação bilíngue, os autores deverão ter ciência que será necessário o envio do texto na outra modalidade no caso de aprovação para publicação. Para o texto em português, a revisão linguística será realizada pela equipe editorial do portal de periódicos da UFG.

## **PREPARAÇÃO DE ORIGINAIS**

**Autores:** os nomes dos autores e a filiação institucional de cada um não devem aparecer no arquivo texto enviado para submissão para, com isso, garantir o critério de sigilo da CAB na avaliação por pares duplo-cego. A CAB alerta que o número de autores por artigo deve ser de, no máximo, 9 (nove).

**Número de páginas:** sugere-se que o artigo contenha um número máximo de 20 páginas.

**Resumo:** o texto do artigo deve conter um resumo em inglês e outro em português, de mesmo teor, apresentando clareza e concisão. Exige-se que o resumo tenha no mínimo 180 e, no máximo, 250 palavras. Não serão aceitas traduções automáticas.

**Palavras-chave:** número mínimo de 3 e no máximo de 5 palavras, separadas por ponto e vírgula. Devem ser apresentadas tanto em Inglês quanto em Português.

**Figuras, Gráficos e Tabelas:** deverão ser inseridos, obrigatoriamente, no corpo do texto após serem citados. Não inserir no final do texto.

**Comitê de Ética:** devem ser apresentados o número do protocolo de aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e/ou Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) no corpo do texto. O certificado de aprovação, obrigatório, deverá ser anexado no ato da submissão do artigo.

**URLs:** utilizar itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL), todos os endereços de URLs no texto deverão estar ativos (Ex.:<http://www.ibict.br>).

## **ESTRUTURA DO TEXTO**

**Título em português:** Fonte Times New Roman 14, caixa alta, centrado, negrito;

**Resumo:** Fonte Times New Roman 12, espaço 1, justificado, com um mínimo de 180 e máximo de 250 palavras;

**Palavras-chave:** Fonte Times New Roman 12, espaço 1, justificado e no máximo cinco palavras-chave;

**Título em inglês (obrigatório):** Fonte Times New Roman 12, caixa alta, centrado; negrito;

**Abstract (obrigatório):** Fonte Times New Roman 12, espaço 1, justificado;

**Keywords:** Fonte Times New Roman 12, espaço 1, justificado e no máximo cinco palavras-chave;

**Introdução:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Material e Métodos:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Resultados:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Discussão:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5 (Os tópicos Resultados e Discussão podem ser apresentados juntos a critério dos autores);

**Conclusões:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Agradecimentos:** (opcional) Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Referências** (não utilize o termo bibliografia): Usar fonte Times New Roman 11, espaço 1 entre linhas e colocar espaço 6 pontos acima e abaixo do parágrafo.