

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - FCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E RECURSOS
PESQUEIROS - PPGCARP

**IMUNOESTIMULAÇÃO EM TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*):
DESEMPENHO PRODUTIVO, RESPOSTAS HEMATO-IMUNOLÓGICAS E
DESAFIO COM *Aeromonas jandaei***

LUANA RUBIM FERNANDES

MANAUS – AM
2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - FCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E RECURSOS
PESQUEIROS - PPGCARP

LUANA RUBIM FERNANDES

IMUNOESTIMULAÇÃO EM TAMBACUI (*Colossoma macropomum*):
DESEMPENHO PRODUTIVO, RESPOSTAS HEMATO-IMUNOLÓGICAS E
DESAFIO COM *Aeromonas jandaei*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros – PPGCARP, da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, na área de concentração de Produção Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Edsandra Campos Chagas
Coorientador: Dr. Marcelo Roseo de Oliveira

MANAUS - AM

2023

Ficha Catalográfica

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

F363i Fernandes, Luana Rubim
Imunoestimulação em tambaqui (*Colossoma macropomum*):
desempenho produtivo, respostas hemato-imunológicas e desafio
com *Aeromonas jandaei* / Luana Rubim Fernandes . 2023
39 f.: il.; 31 cm.

Orientadora: Edsandra Campos Chagas
Coorientador: Marcelo Roseo de Oliveira
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Recursos
Pesqueiros) - Universidade Federal do Amazonas.

1. desafio bacteriano. 2. imunoestimulação. 3. parâmetros
sanguíneos. 4. tambaqui. I. Chagas, Edsandra Campos. II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

LUANA RUBIM FERNANDES

**IMUNOESTIMULAÇÃO EM TAMBQUI (*Colossoma macropomum*): DESEMPENHO
PRODUTIVO E RESPOSTAS HEMATO-IMUNOLÓGICAS APÓS DESAFIO COM
*Aeromonas jandaei***

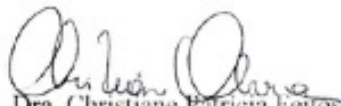
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, área de concentração em Produção Animal.

Aprovado em 28 de abril de 2023.

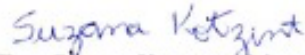
BANCA EXAMINADORA



Dra. Edsandra Campos Chagas - Presidente
Embrapa Amazônia Ocidental



Dra. Christiane Patrícia Feitosa - Membro
Universidade Federal do Amazonas



Dra. Suzana Kotzent - Membro
Universidade Nilton Lins

Aos meus pais, Ivete e Miro.

Aos meus irmãos, Letícia e Júnior.

Ao meu avô, Zênio (in memoriam).

Ao meu bisavô, Pedro (in memoriam).

Ao meu filho de quatro patas, Leonardo (in memoriam).

Nada disso seria possível sem vocês, por isso, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela sua infinita bondade em me conceder a Vida, além de força e coragem.

“Hoje eu queria muito agradecer a mim porque eu não desisti.” (Anitta)

Aos meus pais, Ivete e Miro, pela dedicação e amor que permitiram chegar aqui e crescer profissionalmente.

Aos meus irmãos, Letícia e Júnior, por todo apoio e incentivo, por todas revisões e correções desde a fase de seleção.

Agradeço também ao meu mais doce suporte, meus amores de quatro patas, minha filha Poderosa, meu filho Leonardo (*in memoriam*), Rex, Luna, Nikki e Aurora. Obrigada por existirem e transbordarem amor.

Obrigada família, por sempre acreditarem e confiarem em mim. Vocês são meu porto seguro e fiel apoio.

Aos meus velhinhos, como carinhosamente chamava-os, meu avô Zênio (*in memoriam*) e bisavô Pedro (*in memoriam*) que embora tenham partido meses antes do início do meu trabalho, sempre acreditaram e me apoiaram com sábios conselhos. Sei que estariam vibrando de felicidade ao ver sua netinha concluindo mais uma etapa de vida.

À minha avó, Isarina, que sempre me transmitiu orgulho e força.

À minha orientadora Profa. Dra. Edsandra Campos Chagas que me concedeu o privilégio de ser sua orientada. Agradeço por ter acreditado em mim e em meu trabalho, pelo vasto conhecimento, pela confiança, pela compreensão e pelos incentivos constantes. Sou grata também por todo acolhimento e conforto em momentos pessoais. Seus ensinamentos valem ouro.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Marcelo Roseo de Oliveira, também pela oportunidade e ensinamentos concedidos.

Às professoras Silvia Gallani, Alzira Miranda e Fernanda Sebastião, pelas valiosas contribuições na banca de qualificação.

Ao Prof. Dr. Alexandre Tonin, que foi quem acreditou no meu potencial e me incentivou na área acadêmica.

Aos professores e corpo técnico do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, pela dedicação e ensinamentos.

Aos pesquisadores e técnicos da EMBRAPA, que me permitiram obter conhecimento e pelo apoio no decorrer do projeto.

À FAPEAM, pelo auxílio financeiro concedido, que foi de muita importância para conclusão com êxito do presente trabalho.

À Alltech, por me disponibilizar o aditivo Aquate Fish® para realização do experimento.

Aos colegas de mestrado que contribuíram no decorrer da pesquisa, por todo auxílio durante as coletas e análises laboratoriais.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigada.

Com amor, Luana.

“Para anunciar que o Senhor é justo. Ele é a minha Rocha, e nele não há injustiça.” Salmos 92:15.

RESUMO GERAL

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é a principal espécie nativa produzida no Brasil e na sua criação ocorrem surtos epizooticos, causados por bactérias do gênero *Aeromonas*, culminando em perdas econômicas. Neste sentido, é crescente a busca por alternativas que aumentem a resposta dos peixes contra patógenos por meio da estimulação do sistema imune. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar a influência da suplementação dietária do imunostimulante Aquate Fish®, com levedura de *Saccharomyces cerevisiae*, sobre o desempenho produtivo, parâmetros hemato-imunológicos e desafio com *Aeromonas jandaei* em juvenis de tambaqui. Para isso, foram avaliados quatro tratamentos, com três repetições: T1= controle (sem adição); T2= 6,0; T3= 9,0; T4= 12,0 g kg⁻¹ do aditivo Aquate Fish®. Os tratamentos foram administrados via dieta, por 30 dias. Foram avaliados parâmetros de desempenho zootécnico como ganho de peso, conversão alimentar, fator de condição, índice hepatossomático e sobrevivência; parâmetros hematológicos como hematócrito, hemoglobina, eritrócitos e índices hematimétricos de Wintrobe, para variáveis bioquímicas foram determinados níveis de proteínas totais, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase, bem como albumina, globulina e relação albumina: globulina; e para as análises imunológicas determinou-se atividade respiratória de leucócitos e concentração de lisozima. Após 30 dias, os peixes dos diferentes tratamentos foram inoculados com *A. jandaei* (10⁸ UFC mL⁻¹), enquanto os peixes do grupo controle foram inoculados com PBS e observados diariamente por 10 dias. A suplementação com *S. cerevisiae* não apresentou influência sobre variáveis de desempenho zootécnico, e em 30 dias não houve mortalidade dos peixes. Notou-se alterações em parâmetros hemato-imunológicos, a saber: redução significativa nos valores de hematócrito no tratamento de 12 g kg⁻¹ em relação aos de 6 e 9 g kg⁻¹, aumento da aspartato aminotransferase no tratamento 6 g kg⁻¹, que diferiu significativamente dos tratamentos 0 e 9 g kg⁻¹, e aumento significativo da atividade respiratória de leucócitos no tratamento 9 g kg⁻¹ comparado ao tratamento de 12 g kg⁻¹ de Aquate Fish®. Após desafio foi registrada menor sobrevivência dos peixes do grupo controle inoculado com *A. jandaei* e também dos tratamentos com 6 e 9 g kg⁻¹ do aditivo, significativamente diferente do grupo controle com PBS, que alcançaram 100% de sobrevivência. Dentre os tratamentos com Aquate Fish®, a maior taxa de sobrevivência (75%) foi registrada com 12 g kg⁻¹. Os resultados indicam que a suplementação dietária do tambaqui com Aquate Fish® não promove efeitos negativos no desempenho zootécnico e parâmetros hemato-

imunológicos, e a concentração de 12 g kg⁻¹ aumenta a resistência à infecção por *A. jandaei*.

Palavras-chave: desafio bacteriano, imunoestimulação, parâmetros sanguíneos, tambaqui.

ABSTRACT

Tambaqui (*Colossoma macropomum*) is the main native species produced in Brazil and in its breeding epizootic outbreaks occur, caused by bacteria of the genus *Aeromonas*, culminating in respiratory losses. In this sense, there is a growing search for alternatives that increase the response of fish against pathogens by stimulating the immune system. Thus, the objective of the study was to evaluate the influence of dietary supplementation of the immunostimulant Aquate Fish®, with *Saccharomyces cerevisiae* yeast, on productive performance, hemato-immunological parameters and challenge with *Aeromonas jandaei* in tambaqui juveniles. For this, four treatments were evaluated, with three repetitions: T1= control (without addition); T2= 6.0; T3=9.0; T4= 12.0 g kg⁻¹ of Aquate Fish® additive. Treatments were administered via diet for 30 days. Zootechnical performance parameters such as weight gain, feed conversion, condition factor, hepatosomatic index and survival were evaluated; hematological parameters such as hematocrit, haemoglobin, erythrocytes, and Wintrobe hematimetric indices; in biochemical variables, levels of total proteins, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase, as well as albumin, globulin and albumin:globulin ratio were determined; for immunological analysis, the respiratory activity of leukocytes and lysozyme concentration were determined. After 30 days, fish from different treatments were inoculated with *A. jandaei* (10⁸ CFU mL⁻¹), while fish from the control group were inoculated with PBS and observed daily for 10 days. Supplementation with *S. cerevisiae* had no influence on zootechnical performance variables, and in 30 days there was no fish mortality. Changes were noted in hemato-immunological parameters: significant reduction in hematocrit values in the 12 g kg⁻¹ treatment compared to 6 and 9 g kg⁻¹, increase in aspartate aminotransferase in the 6 g kg⁻¹ treatment, which significantly differed from the 0 and 9 g kg⁻¹ treatments, and significantly increased leukocyte respiratory activity in the 9 g kg⁻¹ treatment compared to the 12 g kg⁻¹ Aquate Fish® treatment. After the challenge, lower survival was recorded for fish in the control group inoculated with *A. jandaei* and also in the treatments with 6 and 9 g kg⁻¹ of the additive, significantly different from the control group with PBS, which reached 100% survival. Among treatments with Aquate Fish®, the highest survival rate (75%) was recorded with 12 g kg⁻¹. The results indicate that dietary supplementation of tambaqui with Aquate Fish® does not promote negative effects on zootechnical performance and hemato-

immunological parameters, and a concentration of 12 g kg⁻¹ increases resistance to infection by *A. jandaei*.

Keywords: bacterial challenge, immunostimulation, blood parameters, tambaqui.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Variáveis de desempenho produtivo de *Colossoma macropomum* alimentados com diferentes níveis do aditivo Aquate Fish TM durante 30 dias24

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Colossoma macropomum* alimentados com diferentes níveis do aditivo Aquate Fish TM durante 30 dias.....25

Tabela 1. Valores médios dos parâmetros imunológicos de *Colossoma macropomum* alimentados com diferentes níveis do aditivo Aquate Fish TM durante 30 dias.....26

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Sobrevivência de tambaquis suplementados com diferentes concentrações de Aquate Fish [®] por 30 dias e desafiados com <i>Aeromonas jandaei</i>	26
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
3. HIPÓTESES	15
Capítulo 1	16
Imunoestimulante à base de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em <i>Colossoma macropomum</i>: crescimento, parâmetros hemato-imunológicos e resistência frente <i>Aeromonas</i> <i>jandaei</i>.....	17
1. Introdução.....	18
2. Material métodos.....	20
2.1. Aquisição e aclimação dos peixes	20
2.2. Preparo das dietas experimentais	21
2.3. Desenho experimental	21
2.4. Desempenho zootécnico	22
2.5. Coleta e análises sanguíneas	22
2.6. Análises hematológicas e bioquímicas	22
2.7. Análises imunológicas	23
2.8. Desafio com <i>Aeromonas jandaei</i>.....	23
2.9. Análise estatística	23
3. Resultados	24
Discussão	27
Conclusão	31
Agradecimentos	31
Referências.....	32
CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	37

1. INTRODUÇÃO GERAL

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é um dos peixes mais importantes da ictiofauna amazônica e possui esse destaque devido a boa qualidade de carne e alto valor comercial (GARCEZ et al., 2021), fazendo com que seja a espécie nativa mais cultivada na região Norte (IPEA, 2017; VALENTI et al., 2021). A produção de tambaqui em 2021 foi de 94,5 mil toneladas, representando 16,91% da produção de peixes total do país (IBGE, 2022). Destaca-se que, em sistemas intensivos, a produção de tambaqui pode chegar a 18 toneladas por hectare em viveiros escavados com o uso de aeração artificial (IZEL et al., 2013), e isto se deve a sua boa adaptação ao ambiente de criação, com boa conversão alimentar e rápido crescimento (VALLADÃO et al., 2018; HILSDORF et al., 2022).

De forma geral, a intensificação dos sistemas produtivos permite otimizar a produtividade, reduzir tempo de produção e custos, mas por outro lado, diferentes fatores estressores inerentes ao processo produtivo podem comprometer o funcionamento adequado do sistema imune dos animais, interferindo na sua homeostase fisiológica (HOSEINI et al., 2022). Com relação à piscicultura, os fatores predisponentes incluem a má qualidade de água, baixos níveis de oxigênio dissolvido, mudança bruscas de temperatura, altas densidades de estocagem, manejo de captura e biometria e transporte de peixes (ZAKI et al., 2020; BRANDÃO et al., 2022). Como consequência, os peixes podem apresentar comprometimento de seu desempenho produtivo e reprodutivo, supressão da resposta imune, diminuição da resistência à patógenos, podendo inclusive levá-los à morte (TAVARES-DIAS e MARTINS, 2017).

Dentre os patógenos que acometem o tambaqui destacam-se as bactérias do complexo *Aeromonas* móveis, como *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas jandaei* (PESSOA et al., 2020; GALLANI et al., 2020; MIELKE et al., 2022; PELLIN et al., 2023). De forma geral, as doenças bacterianas são consideradas um obstáculo para o crescimento sustentável da aquicultura, uma vez que são responsáveis por níveis elevados de infecções e mortalidade em peixes (PESSOA et al., 2020; GALLANI et al., 2021; EL-SHERBENY et al., 2022). Em adição, há um agravante para o controle das doenças bacterianas na criação de peixes, com destaque para o tambaqui, que é a falta de antimicrobianos registrados para uso em espécies nativas, o que tem desencadeado o uso indiscriminado de diferentes antimicrobianos e produtos químicos e têm contribuído

também para o desenvolvimento de resistência bacteriana, podendo afetar a saúde e segurança da população e do ambiente (PESSOA et al., 2019; EL-SHERBENY et al., 2022). No Brasil, há registros de cepas bacterianas com resistência a vários antibióticos, a exemplo de *A. jandaei* isoladas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (ASSANE et al., 2021), de pirarucu (*Arapaima gigas*) (PROIETTI-JUNIOR et al., 2021) e de tambaqui (LEÃO et al., 2020).

Na busca de aumentar a resistência dos peixes contra patógenos têm-se estimulado os estudos com imunoestimulantes, que auxiliam benéficamente os mecanismos específicos e não específicos de defesa dos animais através do aumento na atividade fagocitária, na produção de lisozima e na atividade do sistema complemento (BILLER-TAKAHASHI et al., 2014; 2019; ZHU, 2020; BILLER-TAKAHASHI e CHAGAS, 2022). Em adição, como resposta da aplicação dos imunoestimulantes, observa-se a melhoria no desempenho produtivo, redução do estresse em práticas de manuseio e transporte, estabelecimento da microbiota intestinal e aumento da resistência às doenças parasitárias e infecciosas (BILLER-TAKAHASHI et al., 2014; 2019; DIAS et al., 2020; BILLER-TAKAHASHI e CHAGAS, 2022). Entre os imunoestimulantes utilizados na aquicultura estão substâncias biológicas como vitaminas, derivados de bactérias, polissacarídeos, extratos de plantas e animais e ainda, as substâncias sintéticas (BILLER-TAKAHASHI et al., 2014; 2019; DAWOOD et al., 2018; DIAS et al., 2020; VIJAYARAM et al., 2023).

Dentre os imunoestimulantes destacam-se os derivados da levedura *S. cerevisiae*, com efeito comprovado sobre o desempenho de crescimento e imunidade para algumas espécies de peixes (DIAS et al., 2020; DAWOOD et al., 2021; HAO et al., 2022). Portanto, diante do contexto exposto, estudos que enfatizem a utilização de aditivos imunoestimulantes a base de *S. cerevisiae*, em períodos que antecedam os manejos mais intensos do processo de produção, visando minimizar os efeitos negativos do estresse e a instalação de doenças causadas por *A. jandaei*, que hoje representa a principal bactéria isolada de tambaquis cultivados no estado do Amazonas (LEÃO et al., 2020; MIELKE et al., 2022; PELLIN et al., 2023), devem ser priorizados visando garantir a saúde e bem-estar dos peixes.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a influência da suplementação dietária com o imunoestimulante Aquate Fish[®] sobre o desempenho produtivo, parâmetros hemato-imunológicos e resistência após desafio com *Aeromonas jandaei* em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

2.2. Objetivos específicos

- Verificar o efeito do imunoestimulante comercial Aquate Fish[®] na dieta do tambaqui sobre os parâmetros de desempenho produtivo;
- Avaliar os parâmetros hematológicos, bioquímicos e imunológicos de tambaqui após o período de suplementação dietária com o imunoestimulante comercial Aquate Fish[®];
- Avaliar a sobrevivência de juvenis de tambaqui alimentados com dietas suplementadas com o imunoestimulante Aquate Fish[®], após desafio com a bactéria *A. jandaei*.

3. HIPÓTESES

- A inclusão do imunoestimulante Aquate Fish[®] na dieta do tambaqui por 30 dias influencia no seu melhor desempenho produtivo;
- O imunoestimulante Aquate Fish[®] atua melhorando as respostas hematológicas, bioquímicas e imunológicas do tambaqui;
- Juvenis de tambaqui alimentados com maiores níveis de inclusão do imunoestimulante Aquate Fish[®] são mais resistentes à infecção por *Aeromonas jandaei*, por aumentar a sua imunidade.

Capítulo 1

Imunoestimulante à base de *Saccharomyces cerevisiae* em *Colossoma macropomum*: crescimento, parâmetros hemato-imunológicos e resistência frente *Aeromonas jandaei*

Artigo elaborado conforme as normas da Aquaculture

Imunoestimulante à base de *Saccharomyces cerevisiae* em *Colossoma macropomum*: crescimento, parâmetros hemato-imunológicos e resistência frente *Aeromonas jandaei*

Luana Rubim Fernandes^a, Marcelo Róseo Oliveira^b, Fernanda de Alexandre Sebastião^b, Damy Caroline de Melo Souza^c, Kamila Raissa de Souza Barbosa^a, Rayza Lima Araújo^{a,d}, Edsandra Campos Chagas^{a,b}

^aPrograma de Pós-graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros - PPGCARP, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil.

^bEmbrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, Brazil.

^cPrograma de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada – PPGGIBA, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil.

^dInstituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – IFAM, Presidente Figueiredo

Highlights

- Tambaquis alimentados com dietas contendo *Saccharomyces cerevisiae* não apresentaram alterações nos parâmetros de crescimento.
- A suplementação dietária com *S. cerevisiae* por 30 dias não promove dano hepático em tambaquis.
- Peixes que receberam dietas contendo 9 g kg⁻¹ de *S. cerevisiae* apresentaram maior atividade respiratória de leucócitos.
- Sobrevivência de 75%, após desafio com *Aeromonas jandaei*, foi alcançada por tambaquis que receberam dietas com 12 g kg⁻¹ de *S. cerevisiae*.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da suplementação dietária do imunoestimulante Aquate Fish[®] sobre o desempenho produtivo, parâmetros hemato-

imunológicos e resistência após desafio com *Aeromonas jandaei* em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Foram avaliados quatro tratamentos, com três repetições: T1= controle (sem adição de Aquate Fish®); T2= 6,0; T3= 9,0; T4= 12,0 g kg⁻¹ de ração com o aditivo Aquate Fish®. As dietas com Aquate Fish® foram administradas por 30 dias, e então avaliados parâmetros de crescimento, hematológicos, bioquímicos e imunológicos. A suplementação da dieta de tambaqui com aditivo à base de *S. cerevisiae* não teve influência sobre as variáveis de desempenho como ganho de peso, conversão alimentar, fator de condição, índice hepatossomático e sobrevivência dos peixes. Em adição, não houve alteração nos valores de hemoglobina, número de eritrócitos, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, proteína total, albumina, globulina, relação albumina: globulina, alanina aminotransferase e lisozima. Houve redução significativa nos valores de hematócrito no tratamento de 12 g kg⁻¹ em relação aos de 6 e 9 g kg⁻¹, aumento significativo da aspartato aminotransferase no tratamento 6 g kg⁻¹ em relação aos tratamentos 0 e 9 g kg⁻¹, e também da atividade respiratória de leucócitos no tratamento 9 g kg⁻¹ em comparação ao tratamento 12 g kg⁻¹ do aditivo Aquate Fish®. Após 30 dias de alimentação, peixes pertencentes aos diferentes tratamentos com Aquate Fish® e que foram inoculados com *A. jandaei* (10⁸ UFC mL⁻¹) apresentaram menor sobrevivência, com exceção do tratamento 12 g kg⁻¹, e estes foram significativamente diferentes dos valores do grupo controle inoculado com PBS, que alcançaram 100% de sobrevivência. Dentre os tratamentos com Aquate Fish®, a maior taxa de sobrevivência (75%) foi registrada com emprego de 12 g kg⁻¹. Os resultados indicam que a suplementação da dieta do tambaqui com Aquate Fish® não promovem efeitos negativos no desempenho zootécnico e parâmetros hemato-imunológicos, e na maior concentração (12 g kg⁻¹) promove o aumento da resistência dos tambaquis à infecção por *A. jandaei*.

Palavras-chave: desafio bacteriano, imunoestimulação, parâmetros sanguíneos, tambaqui.

1. Introdução

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é um dos peixes mais importantes da ictiofauna amazônica e possui esse destaque devido à excelente qualidade nutricional de

sua carne e valor econômico agregado (Garcez, 2021). Esta é a principal espécie nativa produzida no Brasil, contribuindo com 16,91% da produção total de peixes em 2021, ou seja, com 94,5 mil toneladas (IBGE, 2022). Entretanto, a produção nacional de tambaqui apresentou redução de 5,92% em relação ao ano de 2020 (IBGE, 2022), e isso pode ser explicado em função de problemas recorrentes em sua cadeia produtiva, como regularização ambiental, falta de investimentos no setor de processamento e de insumos, dificuldades na comercialização e problemas sanitários (Valenti et al., 2021; Hilsdorf et al., 2022), como a ocorrência de bacterioses, com destaque para as bactérias do complexo *Aeromonas* móveis, como *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas jandaei* (Pessoa et al., 2020; Gallani et al., 2020; Mielke et al., 2022), onde verifica-se que no estado do Amazonas há maior prevalência da espécie *A. jandaei* em tambaqui (Pellin et al., 2023).

A doença conhecida por septicemia hemorrágica, causada por bactérias do gênero *Aeromonas*, têm sua ocorrência associada ao excesso de matéria orgânica na água, e por serem oportunistas acabam acometendo os peixes em condições de estresse e/ou associada à infecção por outros patógenos (Pessoa et al., 2020; Eman et al., 2022). Estas bactérias promovem escurecimento da pele, hemorragias, sepse, abscessos, corrosão das nadadeiras, podendo levar à morte dos peixes (Gallani et al., 2020; Dien et al., 2023). No estado do Amazonas verifica-se uma maior prevalência da espécie *A. jandaei* em tambaqui (Pellin et al., 2023).

Neste sentido, a preocupação com o bem estar animal e melhorias na qualidade dos peixes produzidos tem impulsionado a busca por alternativas que minimizem o efeito do estresse, e aumente a resposta contra patógenos por meio da estimulação do sistema imune (Elumalai et al., 2020; Kumar et al., 2022; Vijayaram et al., 2023). Dessa forma, verifica-se que as substâncias imunoestimulantes, proporcionam respostas benéficas com seu uso nas dietas dos peixes, como o aumento da atividade fagocitária, produção de lisozimas e atividade do sistema complemento (Biller-Takahashi et al., 2014; 2019; Zhu, 2020; Takahashi & Chagas, 2022).

Estudos com imunoestimulantes, como os derivados da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, mostraram que após infecção com *A. hydrophila* a atividade respiratória de leucócitos, número de leucócitos e linfócitos aumentaram em pirarucu (*Arapaima gigas*) que receberam a dieta contendo o imunoestimulante na concentração de 12 g kg⁻¹ de dieta (Dias et al., 2019). Em adição, a suplementação do extrato de *S. cerevisiae* na dieta de pirarucus melhorou a resposta imune inata nas concentrações de 10, 40 e 80 g kg⁻¹ por 30

dias. Houve ainda aumento no número de trombócitos, após estresse de manuseio, sendo este aditivo recomendado como imunoestimulante (40 g kg^{-1} ração) (Hoshino et al., 2020). De forma geral, bons resultados da aplicação dos imunoestimulantes na dieta dos peixes mostram melhora no desempenho produtivo, redução do estresse, melhoria da saúde dos peixes e aumento da resistência à doenças bacterianas e parasitárias (Biller-Takahashi et al., 2014; 2019; Monteiro et al., 2021; Vijayaram et al., 2023).

Dentre os aditivos a base de levedura pode-se citar o Aquate Fish™. Este aditivo alimentar comercial é composto por diversos ingredientes como extrato de levedura *S. cerevisiae*, proteinato de zinco, farinha de algas marinhas, selênio e ácido ascórbico (DIAS et al., 2019).

Diante do contexto exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da suplementação dietária do imunoestimulante Aquate Fish™, sobre o desempenho produtivo, parâmetros hemato-imunológicos e resistência após desafio com *Aeromonas jandaei* em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

2. Material métodos

2.1. Aquisição e aclimação dos peixes

Juvenis de tambaqui foram obtidos de uma piscicultura comercial do município de Rio Preto da Eva (AM). Os peixes foram transportados para o setor de piscicultura da Embrapa Amazônia Ocidental, onde foram aclimatados por 30 dias em caixas de fibra com capacidade para 1000 L, com sistema de circulação de água, aquecimento e aeração constante. Durante o período de aclimação, os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes onívoros, contendo 32% de proteína bruta, e a ração foi ofertada duas vezes ao dia, até a saciedade aparente.

Os parâmetros da qualidade de água foram mensurados diariamente durante o período de aclimação. O oxigênio dissolvido ($6,43 \pm 0,06 \text{ mg L}^{-1}$) e a temperatura ($30,56 \pm 0,08 \text{ °C}$) foram mensurados com auxílio de oxímetro digital (YSI Pro20, YSI Inc., USA), o pH ($7,33 \pm 0,08$) com uso de pHmetro digital (YSI F-1100, YSI Inc., 50 USA), enquanto para a alcalinidade ($11,00 \pm 0,00 \text{ mg L}^{-1}$) e dureza ($6,79 \pm 0,07 \text{ mg L}^{-1}$) foi empregado o método de titulação, e para amônia total ($1,36 \pm 0,04 \text{ mg L}^{-1}$) o método de endofenol, de acordo com APHA (1998).

Este estudo foi desenvolvido com a aprovação da Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Amazônia Ocidental, sob o protocolo nº 03/2022.

2.2. Preparo das dietas experimentais

As dietas foram preparadas utilizando-se uma ração comercial (Ração Confiança®) com 36% de PB. À mistura da ração comercial, fornecida pela fábrica, foram adicionadas diferentes quantidades pré-estabelecidas do imunostimulante Aquate Fish® (6, 9 e 12 g kg⁻¹), sendo então homogeneizada. Após esse procedimento, a mistura foi submetida ao processo de peletização para obtenção de grânulos com o diâmetro aproximado de 6 mm, sendo então levados para estufa de circulação forçada para secagem a 40 °C. Os pellets secos de ração, de cada tratamento, foram embalados individualmente e armazenados a -20°C. Para a alimentação diária, as rações foram pesadas e mantidas sob refrigeração até o momento do fornecimento aos peixes.

2.3. Desenho experimental

Tambaquis (n = 180; pesando 109,26 ± 1,28 g; medindo 19,12 ± 0,08 cm) foram distribuídos aleatoriamente em 12 tanques com capacidade de 1000 L (n= 15 peixes por tanque), constituindo quatro tratamentos, com três repetições. Os tratamentos com os imunostimulantes, administrados via dieta, foram: T1= controle (sem adição de Aquate Fish®); T2= 6,0; T3= 9,0; T4= 12,0 g/kg do aditivo Aquate Fish®, segundo recomendações do fabricante (Alltech, Brasil).

Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais duas vezes ao dia, de acordo com a biomassa estocada (3% peso vivo dia⁻¹), durante 30 dias. Após esse período, o procedimento de biometria foi realizado com todos os peixes e para a coleta de sangue utilizou-se 12 peixes por tratamento, e os dados utilizados para a determinação dos parâmetros de desempenho, hematológicos, bioquímicos e imunológicos do tambaqui. O restante dos animais foi desafiado com a bactéria *A. jandaei* e a mortalidade acompanhada por um período de 10 dias.

Os parâmetros de qualidade da água foram monitorados durante o experimento e não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos, cujos valores foram: oxigênio dissolvido (5,90 ± 0,02 mg L⁻¹), temperatura (30,39 ± 0,07 °C), pH (6,02 ±

0,03), alcalinidade ($5,62 \pm 0,29 \text{ mg L}^{-1}$), dureza ($19,25 \pm 1,04 \text{ mg L}^{-1}$) e amônia total ($2,15 \pm 0,14 \text{ mg L}^{-1}$).

2.4. Desempenho zootécnico

Ao final de 30 dias de alimentação, os parâmetros de desempenho de crescimento dos peixes foram calculados, de acordo com Dias et al. (2020), a saber: ganho de peso, conversão alimentar, fator de condição e sobrevivência. Após a biometria, os peixes ($n = 12$ peixes/tratamento) foram anestesiados e então, eutanasiados por morte cerebral e o fígado coletado para determinação do índice hepatossomático (IHS), conforme Dias et al. (2020).

2.5. Coleta e análises sanguíneas

Amostras de sangue foram coletadas ($n = 12$ por tratamento) ao final de 30 dias de alimentação. Os peixes foram previamente anestesiados (benzocaína, 100 mg L^{-1}) e o sangue obtido a partir da punção do vaso caudal, utilizando seringas de 5 ml. O sangue foi dividido em duas alíquotas, a primeira, contendo heparina, foi usada para a determinações dos parâmetros hematológicos e a segunda alíquota foi utilizada para obtenção de soro e posterior realização de análises bioquímicas e imunológicas.

2.6. Análises hematológicas e bioquímicas

Nas análises hematológicas foram determinados o hematócrito pelo método de microhematócrito, a hemoglobina pelo método da cianometemoglobina e a contagem de eritrócitos com uso de câmara de Neubauer, sob microscópio óptico. Com bases nesses dados, os índices hematimétricos de Wintrobe, como o volume corpuscular médio (VCM) e a concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM) foram determinados (Ranzani-Paiva et al., 2013).

Quanto às variáveis bioquímicas, determinou-se os níveis de proteínas totais, albumina, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase com uso de kits comerciais (LabTest®, Minas Gerais, Brasil), enquanto para obtenção dos valores de globulina e da taxa albumina:globulina empregou-se cálculos específicos, onde a globulina foi determinada subtraindo os valores de albumina da proteína total e para a

taxa albumina-globulina dividiu-se o valor da fração albumina pelo valor total da fração globulina de cada amostra analisada, de acordo com Orsi et al. (2017).

2.7. Análises imunológicas

A atividade respiratória de leucócitos foi determinada segundo a metodologia descrita previamente por Sahoo et al. (2005) e Biller-Takahashi et al. (2013), com a leitura das absorbâncias realizadas em espectrofotômetro em 540 nm (Genesys 10S UV-vis; Thermo model).

A determinação da concentração de lisozima se baseou no método clássico de lisar uma suspensão de *Micrococcus lysodeikticus*, por ensaio turbidimétrico e foi medida pela redução da densidade óptica verificada durante a lise da parede celular da bactéria (Smolelis & Hartsell, 1949), modificado por Biller-Takahashi et al. (2014).

2.8. Desafio com *Aeromonas jandaei*

Após 30 dias de alimentação, os peixes pertencentes aos diferentes tratamentos foram divididos em dois grupos ($n = 8$ peixes por tanque), a saber: grupo inoculado com solução de PBS (solução salina tamponada de fosfato esterilizado) e grupo inoculado com *A. jandaei* (cepa AM-70). Esta cepa foi selecionada para o estudo por ser confirmada como patogênica para o tambaqui, pela aplicação do postulado de Koch (Mielke et al., 2022) e o preparo do inóculo foi realizado de acordo com Frota et al. (2022).

Os peixes foram anestesiados com 100 mg L^{-1} de benzocaína e inoculados com $0,1 \text{ ml}$ para cada 10 g de peso com *A. jandaei* (10^8 UFC mL^{-1}), aplicados por via intraperitoneal, utilizando seringas de 1 mL , sendo este mesmo protocolo usado para aplicação do PBS. Após a inoculação, os peixes foram então devolvidos para os tanques de acordo com os tratamentos aplicados. Os peixes foram observados diariamente por um período de 10 dias para o registro de aparecimento de sinais clínicos ou alterações comportamentais e mortalidade.

2.9. Análise estatística

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade da variância pelo teste de Levene. Análise de variância (one-way

ANOVA), seguida por teste de Tukey foram aplicados para dados paramétricos ou análise de Kruskal-Wallis seguida por teste de Dunn, quando não verificada a normalidade dos dados. O nível de significância utilizado em todos os testes foi de 95% ($\alpha=0,05$), para isso, utilizou-se o Software R estatística versão 4.0.2.

3. Resultados

A alimentação dos tambaquis com dietas contendo diferentes concentrações do aditivo Aquate Fish® durante 30 dias não exerceu influência sobre as variáveis de desempenho zootécnico, como peso final, comprimento final, ganho de peso, conversão alimentar, fator de condição e índice hepatossomático (Tabela 1). No período experimental de 30 dias não foi observada a mortalidade dos peixes pertencentes aos diferentes tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis de desempenho produtivo de *Colossoma macropomum* alimentados com diferentes níveis do aditivo Aquate Fish® durante 30 dias.

Parâmetros	Tratamentos			
	0 g kg ⁻¹	6 g kg ⁻¹	9 g kg ⁻¹	12 g kg ⁻¹
Peso Final (g)	186,55 ± 2,29a	178,90 ± 3,98a	182,83 ± 3,92a	180,14 ± 3,32a
Comprimento total Final (cm)	19,20 ± 0,14a	19,03 ± 0,16a	19,12 ± 0,14a	19,12 ± 0,18a
Ganho de peso (g)	76,52 ± 2,29a	71,20 ± 5,84a	73,55 ± 2,34a	70,21 ± 2,89a
Conversão alimentar	1,30 ± 0,06a	1,39 ± 0,14a	1,34 ± 0,03a	1,41 ± 0,05a
Fator de condição	1,75 ± 0,02a	1,76 ± 0,02a	1,75 ± 0,02a	1,77 ± 0,02a
IHS	1,43 ± 0,05a	1,52 ± 0,06a	1,46 ± 0,03a	1,36 ± 0,06a
Sobrevivência (%)	100,00 ± 0,00a	100,00 ± 0,00a	100,00 ± 0,00a	100,00 ± 0,00a

Nas linhas, letras iguais indicam que não há diferença significativa entre tratamentos (teste de Tukey, $p > 0,05$). IHS: Índice hepatossomático.

Em relação aos parâmetros hematológicos, os valores de hemoglobina e número de eritrócitos não apresentaram diferença significativa entre os diferentes tratamentos com emprego do aditivo Aquate Fish®, assim como para os índices volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média (Tabela 2). Já para o hematócrito houve uma redução nos valores dessa variável no tratamento de 12 g kg⁻¹,

que foi significativamente diferente dos valores observados nos tratamentos com 6 e 9 g kg⁻¹ (Tabela 2).

Para os parâmetros proteína total, albumina, globulina e relação albumina: globulina não foi observada diferença significativa em seus valores após a administração do Aquate Fish® na dieta do tambaqui por 30 dias (Tabela 2).

Para a enzima aspartato aminotransferase observou-se um aumento nos valores desse indicador no tratamento 6 g kg⁻¹, e este foi significativamente diferente dos tratamentos 0 e 9 g kg⁻¹ (Tabela 2), enquanto para a alanina aminotransferase não foi observada diferença significativa entre os tratamentos com Aquate Fish® (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Colossoma macropomum* alimentados com diferentes níveis do aditivo Aquate Fish® durante 30 dias.

Parâmetros	Tratamentos			
	0 g kg ⁻¹	6 g kg ⁻¹	9 g kg ⁻¹	12 g kg ⁻¹
Hematócrito (%)	30,43 ± 0,20ab	31,29 ± 0,29a	30,56 ± 0,41a	29,00 ± 0,44b
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	7,67 ± 0,28a	9,97 ± 0,94a	8,37 ± 0,78a	8,67 ± 0,48a
RBC (10 ⁻⁶ µL ⁻¹)	1,45 ± 0,08a	2,01 ± 0,18a	1,99 ± 0,29a	1,95 ± 0,15a
VCM (fL)	215,28 ± 13,04a	168,07 ± 14,98a	175,57 ± 20,84a	160,84 ± 11,57a
CHCM (%)	25,52 ± 0,93a	33,21 ± 3,85a	27,78 ± 2,47a	29,67 ± 2,11a
PT (g dL ⁻¹)	3,79 ± 0,40a	3,81 ± 0,38a	2,98 ± 0,49a	3,84 ± 0,12a
Albumina (g dL ⁻¹)	1,22 ± 0,13a	1,19 ± 0,07a	1,19 ± 0,08a	1,27 ± 0,19a
Globulina (g dL ⁻¹)	2,58 ± 0,34a	2,95 ± 0,47a	2,36 ± 0,39a	2,27 ± 0,22a
A:G	0,57 ± 0,09a	0,52 ± 0,09a	0,69 ± 0,14a	0,70 ± 0,17a
ALT (U L ⁻¹)	18,56 ± 1,19a	15,67 ± 1,34a	15,83 ± 1,35a	15,88 ± 0,93a
AST (U L ⁻¹)	38,60 ± 1,08b	50,00 ± 1,48a	39,00 ± 2,34b	49,86 ± 3,58ab

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (teste de Dunn, $p < 0,05$). RBC = número de eritrócitos, VCM = volume corpuscular médio, CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média, PT = proteínas totais, A:G = albumina:globulina, ALT = alanina aminotransferase, AST = aspartato aminotransferase.

Com relação aos parâmetros imunológicos, observou-se uma diminuição significativa nos valores de atividade respiratória de leucócitos no tratamento 12 g kg⁻¹

em comparação ao tratamento que recebeu 9 g kg⁻¹ (Tabela 3); já para a concentração de lisozima os valores brutos variaram entre 0,2 e 0,3 (µg mL⁻¹) e não houve diferença entre os tratamentos que receberam o aditivo Aquate Fish® (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros imunológicos de *Colossoma macropomum* alimentados com diferentes níveis do aditivo Aquate Fish® durante 30 dias.

Parâmetros	Tratamentos			
	0 g kg ⁻¹	6 g kg ⁻¹	9 g kg ⁻¹	12 g kg ⁻¹
AR (DO)	0,65 ± 0,07ab	0,70 ± 0,09ab	0,84 ± 0,20a	0,32 ± 0,10b
Lisozima (µg mL ⁻¹)	0,26 ± 0,02 ^a	0,23 ± 0,02a	0,23 ± 0,02a	0,26 ± 0,02a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (teste de Dunn, $p < 0,05$). AR = atividade respiratória de leucócitos circulantes.

Os peixes do tratamento controle e que foram infectados experimentalmente por *A. jandaei* foram os que apresentaram uma mortalidade rápida, registrada já no primeiro dia após o desafio bacteriano, e portanto os menores valores da taxa de sobrevivência foram observados nestes peixes deste grupo controle e também nos peixes dos tratamentos suplementados com 6 e 9 g kg⁻¹ de Aquate Fish®, sendo estes valores de sobrevivência significativamente menores que os registrados para os peixes do grupo controle inoculado com PBS, os quais apresentaram 100% de sobrevivência (Figura 1). Peixes do grupo suplementado com 12 g kg⁻¹ de Aquate Fish® apresentaram a maior taxa de sobrevivência, que foi de 75% (Figura 1).

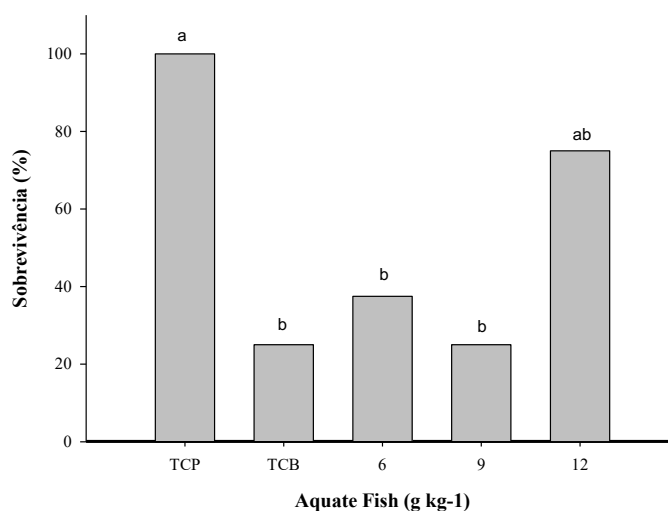


Figura 1. Sobrevivência de tambaquis suplementados com diferentes concentrações de Aquate Fish® por 30 dias e desafiados com *Aeromonas jandaei*. Letras diferentes nas barras indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p < 0,05$). TCB = Tratamento controle inoculado com bactéria

Discussão

Os imunostimulantes estão entre as alternativas empregadas para evitar surtos de doenças na criação de peixes, e isto se deve à sua capacidade de aumentar a resposta imune dos peixes e resistência à doenças (Kumar et al., 2022; Vijayaram et al., 2023). Nessa perspectiva de contribuir para melhorar a saúde e o desempenho de peixes nativos, como o tambaqui tem-se priorizado os estudos com aditivos imunostimulantes (Chagas et al., 2013). Isto se deve ao fato do crescente aumento de registros de ocorrência de doenças bacterianas causadas por *A. hydrophila* e *A. jandaei* (Pessoa et al., 2020; Gallani et al., 2020; Mielke et al., 2022). Com destaque para *A. jandaei*, os registros mostram um considerável potencial patogênico para danos sistêmicos (Pellin et al., 2023), bem como o registro de cepas isoladas de tambaqui com resistência a vários antimicrobianos (Leão et al., 2020).

Imunostimulantes à base da levedura *S. cerevisiae* têm sido avaliados em peixes com resultados positivos sobre os parâmetros de desempenho (Dawood et al., 2021; Freccia et al., 2021; Xia et al., 2022). Neste estudo, não foi observado efeito aditivo sobre os parâmetros de crescimento, como peso final, comprimento final, ganho de peso, conversão alimentar, fator de condição e sobrevivência de tambaquis alimentados com dietas contendo Aquate Fish® (extrato de *S. cerevisiae*) durante 30 dias, o que está de acordo com os resultados de Freccia et al. (2021) com tilápia do Nilo. Por outro lado, o fornecimento de dieta contendo *S. cerevisiae* para European seabass (*Dicentrarchus labrax*) e tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), por um período de 90 dias, influenciou no incremento dos parâmetros de desempenho, como peso final, ganho de peso, taxa de crescimento específico e conversão alimentar (Sutthi & Thaimuangphol, 2020; Dawood et al., 2021), evidenciando a necessidade de um maior tempo de suplementação de *S. cerevisiae* para expressão do máximo potencial de crescimento de tambaquis.

Na avaliação do potencial de desempenho dos peixes, alguns autores fazem uso do índice hepatossômico (IHS) para indicar se os peixes estão utilizando as reservas de energia, no caso glicogênio e lipídios, e assim estabelecer inferências sobre o estado

nutricional e taxa de crescimento dos peixes (Dias et al., 2019; Freccia et al., 2021). Neste estudo, a inclusão do Aquate Fish® na dieta dos tambaquis não promoveu alterações significativas nos valores de IHS nos diferentes tratamentos, de forma semelhante aos resultados relatados para pirarucus, que também receberam a suplementação com o aditivo Aquate Fish® (Dias et al., 2019). Em adição, alguns autores pontuam que o efeito da suplementação de *S. cerevisiae* é potencializado quando os peixes são expostos a condições estressantes ou condições sanitárias inadequadas no ambiente de criação (Freccia et al., 2021), o que auxilia na compreensão dos resultados deste estudo, onde as condições de criação e manejo foram adequadas ao cultivo de tambaquis, e que refletiram no seu bem-estar, como visto pelos valores do fator de condição, mas que provavelmente não contribuíram para potencializar a ação do aditivo a base de *S. cerevisiae* nos parâmetros de crescimento dos peixes. Por outro lado, o aditivo a base de *S. cerevisiae* não promoveu efeito negativo, uma vez que os peixes também não precisaram mobilizar suas reservas de energia, como evidenciado pelo IHS.

Estudos relatam que aditivos à base de *S. cerevisiae* são conhecidos por seu efeito imunestimulante, promovendo melhora na função metabólica e na resposta imune dos peixes (Dias et al., 2020; Dawood et al., 2021). Neste estudo, não houve alterações em alguns parâmetros hematológicos, como hemoglobina, número de eritrócitos e índices hematimétricos, após suplementação de Aquate Fish® na dieta por 30 dias, muito embora tenha sido observado os menores valores destes indicadores em peixes do grupo controle. Em adição, os valores de hematócrito dos tratamentos com 6 e 9 g kg⁻¹ foram significativamente maiores em relação ao tratamento com 12 g kg⁻¹ de Aquate Fish®, e um padrão próximo com aumento nos valores de hematócrito foi observado em European seabass suplementados com 1 e 2 g kg⁻¹ e em “Java Barb” (*Barbonymus gonionotus*) recebendo 1, 2, 3 e 4 g kg⁻¹ de *S. cerevisiae* na dieta, comparado ao controle (Dawood et al., 2021; Rachmawati et al., 2021). Portanto, é possível sugerir que a suplementação da dieta de tambaquis com *S. cerevisiae* não afetou negativamente a capacidade de transporte de oxigênio e tampouco contribuiu para um quadro de anemia nos peixes.

Neste estudo não houve influência da suplementação com Aquate Fish® na função metabólica dos tambaquis, uma vez que não foi observada alterações nos parâmetros proteína total, albumina, globulina e relação albumina: globulina, após fornecimento da dieta por 30 dias, e estes resultados são semelhantes ao relatado para pirarucus (Dias et al., 2019), indicando que não houve alterações em suas funções fisiológicas. Por outro

lado, há também estudos que relatam que peixes suplementados com *S. cerevisiae* apresentam altos valores de proteínas totais, albumina e globulina, indicando que houve melhora nas respostas metabólicas e imune dos peixes (Dawood et al., 2021).

As aminotransferases são produzidas em células de hepatócitos no fígado, e podem ser indicativas de dano hepático quando os níveis das enzimas AST e ALT são altos (Kong et al., 2021), o que pode ocorrer em função de uma condição de estresse ou doenças (Kong et al., 2021; Li et al., 2022). Neste estudo, não foi observada diferença significativa para a enzima ALT nos peixes dos tratamentos com Aquate Fish® (6, 9 e 12 g kg⁻¹) e do grupo controle, de forma similar aos resultados obtidos para tilápia do Nilo suplementadas com 0,5% de *S. cerevisiae* e salinidade de 0-10 ppt e European seabass suplementados com 1 e 2 g kg⁻¹ de *S. cerevisiae* (Sutthi & Thaimuangphol, 2020; Dawood et al., 2021). Embora não se tenha observado diferença significativa nos valores de ALT entre os tratamentos, é possível observar uma discreta redução de ALT em tambaquis que receberam a suplementação de *S. cerevisiae* em relação ao controle, o que pode sugerir que provavelmente o aditivo Aquate Fish® contribuiu para a proteção do fígado dos peixes, e que os valores médios de ALT obtidos para tambaquis estão próximos aos relatados na literatura para tambaquis sadios (De Melo Souza et al., 2022).

Com relação à enzima AST, houve aumento em seus valores em tambaquis pertencentes ao tratamento 6 g kg⁻¹, que foi significativamente diferente do controle. Altos níveis de aminotransferases podem também estar associados às condições estressantes, como relatado por Li et al. (2022) para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) expostas a temperaturas acima da faixa considerada adequada para seu desenvolvimento, que no estudo foi de 24 °C. Contudo, para os tambaquis não foi possível identificar um fator estressante que pudesse ter contribuído para essa alteração na AST, uma vez que esse efeito não foi observado para a enzima ALT.

Os imunostimulantes são reconhecidos por estimularem o sistema de defesa dos peixes mediante a regulação da microbiota intestinal e assim modular a imunidade ou pela ativação direta do sistema imune inato e adaptativo (Dawood et al., 2018; Thépot et al., 2021; Vijayaram et al., 2023). Neste estudo, a adição de aditivo à base de *S. cerevisiae* na dieta de tambaquis por 30 dias promoveu aumento significativo da atividade respiratória de leucócitos no tratamento 9 g kg⁻¹ em relação ao de 12 g kg⁻¹, e este padrão foi semelhante ao relatado por Dias et al. (2020) que registraram valores mais altos em pirarucus suplementados com 4 g kg⁻¹ do aditivo Levabon®. Neste contexto, destaca-se o

processo de fagocitose como fundamental para destruição de patógenos e para indução da defesa adquirida, sendo estas respostas estimuladas por emprego de imunostimulantes, os quais promovem o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), e que são avaliadas pela atividade respiratória de leucócitos (Biller-Takahashi & Chagas, 2022), o que corrobora o resultado obtido nesse estudo com tambaquis suplementados com Aquate Fish® na indução da resposta imune.

Em adição, a lisozima é uma importante enzima que possui atividade frente bactérias gram-positivas e gram-negativas (Biller et al., 2021; Koch et al., 2021), atuando na quebra das paredes celulares de bactérias patogênicas e como uma resposta imune não específica (Saurabh & Sahoo, 2008), sendo o aumento no nível desta enzima considerado um mecanismo de proteção natural dos peixes (Saurabh & Sahoo, 2008; Biller et al., 2021; Koch et al., 2021). Entretanto, nesse estudo não foi observado diferença na concentração de lisozima dos peixes dos tratamentos com aditivo à base de *S. cerevisiae*, de forma contrária aos registros para European seabass suplementados com 1 e 2 g kg⁻¹ de *S. cerevisiae* (Dawood et al., 2021) e para tilápia do Nilo suplementada com 0,1% de β-glucano (Koch et al., 2021).

Protocolos de desafio bacteriano são empregados para avaliar a resistência dos peixes à infecções, contribuindo para inferir sobre a condição imunológica do organismo (Xia et al., 2022). Neste estudo o desafio com *A. jandaei* mostrou um padrão comumente observado em desafios com bactérias do gênero *Aeromonas*, que consiste na mortalidade dos peixes entre o primeiro e o quinto dia posterior à infecção, como relatado por Gallani et al. (2020) para tambaquis desafiados com *A. hydrophila* e por Frota et al. (2022) para tambaquis desafiados com *A. jandaei*. Em adição, estudos mostram que o fornecimento de dietas contendo aditivo à base de *S. cerevisiae* para o bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) promoveu o aumento da sobrevivência dos peixes quando desafiados com *A. veronii* e *A. hydrophila* (Xia et al., 2022). Para tambaquis, a sobrevivência foi proporcional ao aumento da concentração de Aquate Fish® na dieta, sendo alcançado 75% de sobrevivência, após desafio com *A. jandaei*, com 12 g kg⁻¹ de Aquate Fish®, e nesta mesma concentração foi registrada 100% de sobrevivência de pirarucus após infecção com *A. hydrophila*, além de melhorar a resposta imune destes (Dias et al., 2019). Portanto, os aditivos à base de *S. cerevisiae* contribuem, de forma geral, para modular a resposta imune e a resistência dos organismos a diferentes patógenos (Koch et al., 2022; Xia et al., 2022).

Conclusão

Dietas suplementadas com aditivos à base de *Saccharomyces cerevisiae* (Aquate Fish®) não promoveram efeitos negativos no desempenho zootécnico, parâmetros hematológicos e bioquímicos de tambaquis, e na maior concentração (12 g kg⁻¹) promove o aumento da resistência dos peixes à infecção por *Aeromonas jandaei*.

Agradecimentos

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - Fapeam e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (nº 315771/2020-8) pelo apoio financeiro e pela bolsa de produtividade em pesquisa concedida a E. C. Chagas. Pelo auxílio na coleta e processamento de material biológico agradecemos aos funcionários Anthony Zubiarte Augustin e José Marconde da Costa e Silva, da Embrapa Amazônia Ocidental.

Referências

APHA, American Public Health Association, 1998. Standard Methods for the examination of water and wastewater – Water Environmental Federation, 20 ed. Washington.

Biller-Takahashi, J. D., Polycarpo, G. V., Moromizato, B. S., Sidekerskis, A. P. D., Da Silva, T. D., Dos Reis, I. C., Fierro-Castro, C., 2021. Lysozyme activity as an indicator of innate immunity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) when challenged with LPS and *Streptococcus agalactiae*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 50, e20210053.

Biller-Takahashi, J. D., Chagas, E. C., 2022. Mechanisms of resistance and tolerance against parasites in fish: the impairments caused by *Neoechinorhynchus buttnerae* in *Colossoma macropomum*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 94, e20210258. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220210258>.

Biller-Takahashi, J. D., Takahashi, L. S., Pilarski, F., Sebastião, F. A., Urbinati, E. C., 2013. Serum bactericidal activity as indicator of innate immunity in pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65, 1745-1751.

Biller-Takahashi, J. D., Urbinati, E. C., 2014. Fish immunology: the modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. *Anais Da Academia Brasileira De Ciências* 86, 1483-1495.

Biller-Takahashi, J. D., Takahashi, L. S., Moromizato, B. S., Miasaki, C.T., 2019. Levamisole modulates the cell-mediated immunity of matrinxã, *Brycon amazonicus*. *Boletim do Instituto de Pesca* 45, e.445.

Chagas, E. C., Pilarski, F., Sakabe, R., De Moraes, F. R., 2013. Desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com β -glucano. *Pesq. Agropec. Bras.* 48, 899-905.

Dawood, M. A. O., Koshio, S., Esteban, M. A., 2018. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture* 10, 950-974. <https://doi.org/10.1111/raq.12209>

Dawood, M. A. O., Abd El-Kader, M., Farid, M. A., Abd-Elghany, M., Alkafafy, M., Van Doan, H., 2021. *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, immune and antioxidative responses of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Annals of Animal Science* 21, 1423-1433. <https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0012>

De Melo Souza, D. C., Dos Santos, M. C., De Souza, R. L., Chagas, E. C., 2021. Profile of local and systemic humoral immune response in *Colossoma macropomum* infected by *Neoechinorhynchus buttnerae*. *Aquaculture Research* 3, 1131-1135. <https://doi.org/10.1111/are.15624>

Dias, M. K. R., Yoshioka, E. T. O., Rodriguez, A. F. R., Ribeiro, R. A., Faria, F. S. E. D. V., Ozório, R. O. A., Tavares-Dias, M., 2020. Growth and hematological and immunological responses of *Arapaima gigas* fed diets supplemented with

immunostimulant based on *Saccharomyces cerevisiae* and subjected to handling stress. *Aquaculture Reports* 17, 100335.

Dias, M. K. R., Yoshioka, E. T. O., Rodriguez, A. F. R., Ribeiro, R. A., Faria, F. S. E. D. V., Ozório, R. O. A., Tavares-Dias, M., 2019. Growth, physiological and immune responses of *Arapaima gigas* (Arapaimidae) to *Aeromonas hydrophila* challenge and handling stress following feeding with immunostimulant supplemented diets. *Fish and Shellfish Immunology* 84, 843-847.

Dien, L.T., Ngo, T.P.H., Nguyen, T.V., Kayansamruaj, P., Salin, K.R., Mohan, C.V., Rodkhum, C., Dong, H.T., 2023. Non-antibiotic approaches to combat motile *Aeromonas* infections in aquaculture: Current state of knowledge and future perspectives. *Reviews in Aquaculture* 15, 333–366. <https://doi.org/10.1111/raq.12721>

Elumalai, P., Kurian, A., Lakshmi, S., Faggio, C., Esteban, M. A., Ringø, E., 2020. Herbal immunomodulators in aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 29, 33-57.

Eman, M. E., Khoris, E. A., Kassem, S., 2022. Assessment the efficacy of some various treatment methods, in vitro and in vivo, against *Aeromonas hydrophila* infection in fish with regard to side effects and residues. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 253, 109246.

Freccia, A., Picoli, F., Ghizzo, J. B., Faust, M., Sanches, E. A., Emerenciano, M. G. C., 2021. Effects of different stocking densities and supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* in juvenile Nile tilapia cultivated in a recirculating water system (RAS). *Research, Society and Development* 10, e183101623385. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23385>

Frota, R., Gallani, S. U., Dos Santos, P. D. P., Pereira, C. S., Oishi, C. A., Gonçalves, L. U., Valladão, G. M. R., 2022. Effects of thymol:carvacrol association on health and zootechnical performance of tambaqui *Colossoma macropomum*. *Boletim do Instituto de Pesca* 48. <https://doi.org/10.20950/1678-2305/bip.2022.48.e725>

Gallani, S. U., Valladão, G. M. R., Assane, I. M., Alves, L.O., Kotzent, S., Hashimoto, D.T., Pilarski, F., 2020. Motile *Aeromonas* septicemia in tambaqui *Colossoma macropomum*: Pathogenicity, lethality and new insights for control and disinfection in aquaculture. *Microbial Pathogenesis* 149.

Garcez, J. R., Nóbrega, V. S. L., Torres, T. P., Signor, A. A., 2021. Cultivation of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in net tanks: Technical aspects. *Research, Society and Development* 10, e45810817560. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17560>

Hilsdorf, A. W. S., Hallerman, E., Valladão, G. M. R., Zaminhan-Hassemer, M., Hashimoto, D. T., Dairiki, J. K., Takahashi, L. S., Albergaria, F. C., Gomes, M. E. DE S., Venturieri, R. L. L., Moreira, R. G., Cyrino, J. E. P., 2022. The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. *Reviews in Aquaculture* 14, 993–1027. <https://doi.org/10.1111/raq.12638>

Hoshino, M. D. F. G., Ramos, R. Da S., Lopes, J. R. T., Ribeiro, R. A., Rodriguez, A. F. R., Silva, T. C. Da, Faria, F. S. E. D. V. De, Tavares-Dias, M., Ozorio, R. O. De A., Yoshioka, E. T. O., 2020. Innate immune response of pirarucu improved with yeast-supplemented diets. *Aquaculture Reports* 18, 100421. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100421>

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2022. Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. Levantamento Sistemático da Produção Agropecuária (LSPA).

Koch, J. F. A., De Oliveira, C. A. F.; Zanutto, F. S., 2021. Dietary β -glucan (MacroGuard) improves innate immune responses and disease resistance in Nile tilapia regardless of the administration period. *Fish and Shellfish Immunology* 112, 56-63.

Kong, Y., Li, M., Chu, G., Liu, H., Shan, X., Wang, G., Han, G., 2021. The positive effects of single or conjoint administration of lactic acid bacteria on *Channa argus*: Digestive enzyme activity, antioxidant capacity, intestinal microbiota and morphology. *Aquaculture* 531, 735852.

Kumar, S., Choubey, A. K., Srivastava, P. K., 2022. The effects of dietary immunostimulants on the innate immune response of Indian major carp: A review. *Fish & Shellfish Immunology* 123, 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.02.039>

Leão, S. O. A., Silva, A. M. S., Velasquez, J. G. R., Brandão, F., Chagas, E. C., Majolo, C., 2020. Ocorrência de *Aeromonas* multirresistentes em tambaquis cultivados em tanques escavados. *Scientia Amazonia* 9, CA17- CA24.

Mielke, T. D., Francisco, C. J., Dorella, F. A., Figueiredo, H. C. P., Tavares, G. C., Gallani, S. U., 2022. The strategic use of water additives for tambaqui *Colossoma macropomum* transport: New insights of bacteriosis and productivity approach. *Aquaculture* 558, 738406.

Li, S., Liu, Y., Li, B., Ding, L., Wei, X., Wang P., Chen, Z., Han, S., Huang, T., Wang, B., Sun, Y., 2022. Physiological responses to heat stress in the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) revealed by UPLC-QTOF-MS metabolomics and biochemical assays. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 242, 113949.

Monteiro, P. C., Brandão, F. R., Farias, C. F. S., Sebastião, F. A., Majolo, C., Dairiki, J. K., De Oliveira, M. R., Chaves, F. C. M., O'Sullivan, F. L. A., Martins, M. L., Chagas, E. C., 2021. Dietary supplementation with essential oils of *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* on the growth and hemato-immunological parameters of *Colossoma macropomum* challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports* 19, 100561. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100561>

Orsi, R. O., Dos Santos, V. G., Pezzato, L. E., De Carvalho, P. L. P. F., Teixeira, C. P., Freitas, J. M. A., Padovani, C. R., Sartori, M. M. P., Barros, M. M., 2017. Activity of Brazilian propolis against *Aeromonas hydrophila* and its effect on Nile tilapia. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 89, 1785-1799. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720160630>

Pellin, G. P., Martins, R. A., Queiroz, C. A., Sousa, T. F., Muniz, A. W., Silva, G. F., Majolo, C., 2023. *Aeromonas* from farmed tambaqui from North Brazil: molecular identification and pathogenic potential. *Ciência Rural* 53, 1-7.

Pessoa, R. B. G., Marques, D. S. C., Lima, R. O. H. A., Oliveira, M. B. M., Lima, G. M. S., De Carvalho, E. M., Coelho, L. C. B. B., 2020. Molecular characterization and evaluation of virulence traits of *Aeromonas* spp. isolated from the tambaqui fish (*Colossoma macropomum*). *Microbial Pathogenesis* 147, 104273.

Ranzani-Paiva, M. J. T. et al., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá: Ed. UEM. <https://dx.doi.org/10.7476/9788576286530>.

Saurabh, S., Sahoo, P. K., 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research* 39, 233-239. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x>

Smolelis, A. N., Hartsell, S. E., 1949. The determination of lysozyme. *Journal of Bacteriology* 58, 731-736.

Sutthi, N., Thaimuangphol, W., 2020. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth performances, body composition and blood chemistry of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) under different salinity conditions. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 19, 1428-1446.

Tavares-Dias, M., 2015. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. In: *Aquicultura no Brasil: Novas perspectivas*. 1 ed., v. 1. São Carlos, SP, Brazil: Pedro & João Editores.

Thépot, V., Campbell, A. H., Rimmer, M. A., Paul, N. A., 2021. Meta-analysis of the use of seaweeds and their extracts as immunostimulants for fish: a systematic review. *Reviews in Aquaculture* 13, 907-933.

Valenti, W. C., Barros, H. P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G. W., Cavalli, R. O., 2021. Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports* 19.

Vijayaram, S., Ringo, E., Zuurro, A., Doan, H. V., Sun, Y., 2023. Beneficial roles of nutrients as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture and Fisheries*. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2023.02.001>

Xia, R., Hao, Q., Xie, Y., Zhang, Q., Ran, C., Yang, Y., Zhou, W., Chu, F., Zhang, X., Wang, Y., Zhang, Z., Zhou, Z., 2022. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* on growth, intestinal and liver health, intestinal microbiota and disease resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture reports* 24. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101157>

Zhu, F., 2020. A review on the application of herbal medicines in the disease control of aquatic animals. *Aquaculture* 526, 735422. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735422>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tambaqui é a espécie nativa mais cultivada no Brasil e é acometido por bactérias do complexo *Aeromonas* móveis, como *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas jandaei*, sendo esta última registrada em maior prevalência nos tambaquis cultivados no estado do Amazonas, e com registros de resistência a vários antimicrobianos. Neste contexto, o uso de imunostimulantes tem se tornado crescente na criação de peixes, uma vez que esses aditivos possuem a sua capacidade de aumentar a resposta imune e bem como a resistência dos peixes a diversas doenças.

Neste estudo optou-se por avaliar o aditivo Aquate Fish[®], que é um imunostimulante à base de *Saccharomyces cerevisiae*. Dentre os resultados obtidos destaca-se que a suplementação da dieta do tambaqui com Aquate Fish[®] por 30 dias não promoveu efeitos negativos nos parâmetros de crescimento dos peixes, e adicionalmente não ocasionou alterações significativas nos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Com relação aos parâmetros imunológicos, houve aumento significativo da atividade respiratória de leucócitos no tratamento 9 g kg⁻¹ em comparação ao tratamento 12 g kg⁻¹ do aditivo Aquate Fish[®], mas sem efeito para os níveis de lisozima.

A aplicação do protocolo de desafio bacteriano, para tambaquis suplementados com Aquate Fish[®] na dieta, evidenciou que os peixes suplementados com 6 e 9 g kg⁻¹, assim como o controle sem suplementação, apresentaram menores taxas de sobrevivência que variaram entre 25 e 37,5%. Por outro lado, com a maior suplementação, ou seja 12 g kg⁻¹ de Aquate Fish[®], os peixes alcançaram 75% de sobrevivência após desafio com *A. jandaei*.

Como perspectiva vislumbra-se avaliar o efeito benéfico da suplementação do Aquate Fish[®], quando administrados em diferentes tempos, curto e prolongado, para obtenção de melhores respostas de crescimento e imune. Em adição, estudos sobre a estrutura da microbiota intestinal devem ser conduzidos, uma vez que a estimulação do sistema de defesa dos peixes também se dá mediante a regulação da microbiota intestinal.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- ASSANE, I. M., VALLADAO, G. M., & PILARSKI, F. Chemical composition, cytotoxicity and antimicrobial activity of selected plant-derived essential oils against fish pathogens. **Aquaculture Research**, v. 52, p. 793-809, 2021.
- BILLER-TAKAHASHI, J. D.; TAKAHASHI, L. S.; MOROMIZATO, B. S.; MIASAKI, C.T. Levamisole modulates the cell-mediated immunity of matrinxã, *Brycon amazonicus*. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 45, p. e.445, 2019.
- BILLER-TAKAHASHI, J. D.; URBINATI, E. C. Fish immunology: the modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. **Anais Da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, p 1483-1495, 2014.
- BILLER-TAKAHASHI, J. D; CHAGAS, E. Mechanisms of resistance and tolerance against parasites in fish: the impairments caused by *Neoechinorhynchus buttnerae* in *Colossoma macropomum*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v. 94, n. 4. 2022. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220210258>.
- BRANDÃO, F. R.; DUNCAN, W. P.; FARIAS, C. F. S.; DE MELO SOUZA, D. C.; DE OLIVEIRA, M. I. B.; ROCHA, M. J. S.; MONTEIRO, P. C.; MAJOLO, C.; CHAVES, F. C. M.; DE ALMEIDA O'SULLIVAN, F. L.; CHAGAS, E. C. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* as reducers of stress during the transport of *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 560, p. 738515, 2022.
- DAWOOD, M. A. O.; ABD EL-KADER, M.; FARID, M. A.; ABD-ELGHANY, M.; ALKAFIFY, M.; VAN DOAN, H. *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, immune and antioxidative responses of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Annals of Animal Science**, v. 21, n. 4, p. 1423-1433, 2021. <https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0012>
- DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; ESTEBAN, M. A. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 2018, v. 10, n. 4 p. 950-974, 2018. <https://doi.org/10.1111/raq.12209>
- DIAS, M. K. R.; YOSHIOKA, E. T. O.; RODRIGUEZ, A. F. R.; RIBEIRO, R. A.; VIANA, F. S. E. D.; OZÓRIO, R. O. A.; TAVARES-DIAS, M. Growth and hematological and immunological responses of *Arapaima gigas* fed diets supplemented with immunostimulant based on *Saccharomyces cerevisiae* and subjected to handling stress. **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100335, 2020.
- EL-SHERBENY, E. M; EL KHORIS, E. A; KASSEM, S. Assessment the efficacy of some various treatment methods, in vitro and in vivo, against *Aeromonas hydrophila* infection in fish with regard to side effects and residues. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**. v. 253, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109246>
- GALLANI, S. U.; VALLADÃO, G. M. R.; ALVES, L. O.; JESUS, R. B.; KOTZENT, S.; HASHIMOTO, D. T.; WIEGERTJES, G. PILARSKI, F. ETosis in tambaqui *Colossoma macropomum*: A programmed cell death pathway and approach of leukocytes immune response. **Microbial Pathogenesis**. v. 155, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104918>
- GALLANI, S. U.; VALLADÃO, G. M. R.; ASSANE, I. M.; ALVES, L.O.; KOTZENT, S.; HASHIMOTO, D.T.; PILARSKI, F. Motile *Aeromonas* septicemia in tambaqui *Colossoma macropomum*: Pathogenicity, lethality and new insights for control and disinfection in aquaculture, **Microbial Pathogenesis**, v 149, 2020.
- GARCEZ, J. R.; NÓBREGA, V. S. L.; TORRES, T. P.; SIGNOR, A. A. Cultivation of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in net tanks: Technical aspects. **Research, Society**

and Development, v. 10, n. 8, p. e45810817560, 2021. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17560>

HAO, Q.; XIA, R.; ZHANG, Q.; ZIE, Y.; RAN, C.; YANG, Y.; ZHOU, W.; CHU, F.; ZHANG, X.; WANG, Y.; ZHANG, Z.; ZHOU, Z. Partially replacing dietary fish meal by *Saccharomyces cerevisiae* culture improve growth performance, immunity, disease resistance, composition and function of intestinal microbiota in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Fish & Shellfish Immunology**. v. 125, p. 220-229, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.05.014>

HILSDORF, A. W. S.; HALLERMAN, E.; VALLADÃO, G. M. R.; ZAMINHAN-HASSEMER, M.; HASHIMOTO, D. T.; DAIRIKI, J. K.; TAKAHASHI, L. S.; ALBERGARIA, F. C.; GOMES, M. E. DE S.; VENTURIERI, R. L. L.; MOREIRA, R. G.; CYRINO, J. E. P. The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, p. 993–1027, 2022. <https://doi.org/10.1111/raq.12638>

HOSEINI, S. M.; AYDIN, B.; HOSEINIFAR, S. H.; MOONMANEE, T.; DOAN, H. V.; Dietary Artemisia, *Artemisia annua*, supplementation improves common carp welfare under high stocking density. **Aquaculture Research**. v. 53, p. 3494-3503, 2022. <https://doi.org/10.1111/are.15855>

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. Levantamento Sistemático da Produção Agropecuária (LSPA). IBGE, 2022.

IPEA. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada**. Brasília: Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/8043/1/td_2328.pdf

IZEL, A. C. U.; CRESCENCIO, R. O'SULLIVAN, F. F. L. de A.; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C. de L. SILVA, J. I. Produção intensiva de tambaqui em tanques escavados com aeração. **Circular Técnica**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2013. Disponível: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/972469>

LEÃO, S. O. A.; SILVA, A. M. S.; VELASQUEZ, J. G. R.; BRANDÃO, F.; CHAGAS, E. C.; MAJOLO, C. Ocorrência de *Aeromonas* multirresistentes em tambaquis cultivados em tanques escavados. **Scientia Amazonia**, v.9, n. 4, p. CA17- CA24, 2020.

MIELKE, T. D.; FRANCISCO, C. J.; DORELLA, F. A.; FIGUEIREDO, H. C. P.; TAVARES, G. C., & GALLANI, S. U. The strategic use of water additives for tambaqui *Colossoma macropomum* transport: New insights of bacteriosis and productivity approach. **Aquaculture**, v. 558, p. 738406. 2022.

PELLIN, G. P.; MARTINS, R. A.; QUEIROZ, C. A.; SOUSA, T. F.; MUNIZ, A. W.; SILVA, G. F.; MAJOLO, C. *Aeromonas* from farmed tambaqui from North Brazil: molecular identification and pathogenic potential. **Ciência Rural**, v. 53, p. 1-7, 2023.

PESSOA, R. B. G.; DE OLIVEIRA, W. F.; MARQUES, D. S. C.; DOS SANTOS CORREIA, M. T.; DE CARVALHO, E. V. M. M.; COELHO, L. C. B. B. The genus *Aeromonas*: A general approach. **Microbial Pathogenesis**, v 130, p 81-94, 2019.

PESSOA, R. B. G.; MARQUES, D. S. C.; LIMA, R. O. H. A.; OLIVEIRA, M. B. M.; LIMA, G. M. S.; DE CARVALHO, E. M.; COELHO, L. C. B. B. Molecular characterization and evaluation of virulence traits of *Aeromonas* spp. isolated from the tambaqui fish (*Colossoma macropomum*). **Microbial Pathogenesis**, v 147, p. 104273, 2020.

PROIETTI-JUNIOR, A. A.; LIMA, L. S.; ROGES, E. M.; RODRIGUES, Y. C.; LIMA, K. V. B.; RODRIGUES, D. P. & TAVARES-DIAS, M. Experimental co-nfection by *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas jandaei* in pirarucu *Arapaima gigas* (Pisces: Arapaimidae). **Aquaculture Research**, v. 52, n. 4, p. 1688-1696. 2021.

- TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 41, n. 4, p. 913–918, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12639-017-0938-y>
- VALENTI, W. C.; BARROS, H. P.; MORAES-VALENTI, P.; BUENO, G. W. & CAVALLI, R. O. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v 19, 2021.
- VALLADÃO, G. M. R.; GALLANI, S. U.; PILARSKI, F. South American fish for continental aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 2, p. 351-369, 2018. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>
- VIJAYARAM, S.; RINGO, E.; ZUORRO, A.; DOAN, H. V.; SUN, Y. Beneficial roles of nutrients as immunostimulants in aquaculture: A review. **Aquaculture and Fisheries**, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2023.02.001>
- ZAKI, M. A. A.; ALABSSAWY, A. N.; NOUR, A. E. M.; EL BASUINI, M. F.; DAWOOD, M. A. O.; ALKAHTANI, S.; ABDEL-DAIM, M. M. The impact of stocking density and dietary carbon sources on the growth, oxidative status and stress markers of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under biofloc conditions. **Aquaculture Reports**, v. 16, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100282>
- ZHU, F. A. review on the application of herbal medicines in the disease control of aquatic animals. **Aquaculture**. v. 526, p. 735422, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735422>