



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE ESTUDOS COSTEIROS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE PESCA

VICTOR HUGO PIEDADE VIEIRA

**PROBIÓTICO AUTÓCTONE (*Enterococcus faecium*) NA
FREQUÊNCIA DE ALIMENTAÇÃO DE LARVAS DE
PIAUÇU *Megaleporinus macrocephalus* (GARAVELLO &
BRITSKY, 1988) SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E
RESISTÊNCIA À PATÓGENOS**

BRAGANÇA

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE ESTUDOS COSTEIROS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE PESCA

VICTOR HUGO PIEDADE VIEIRA

**PROBIÓTICO AUTÓCTONE (*Enterococcus faecium*) NA
FREQUÊNCIA DE ALIMENTAÇÃO DE LARVAS DE
PIAUÇU *Megaleporinus macrocephalus* (GARAVELLO &
BRITSKY, 1988) SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E
RESISTÊNCIA À PATÓGENOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade de Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Pará, Instituto de Estudos Costeiros, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Bacharel em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Martins Cordeiro

Coorientador: Me. Francisco Alex Lima Barros

UFPA – campus Bragança

BRAGANÇA

2022

VICTOR HUGO PIEDADE VIEIRA

**PROBIÓTICO AUTÓCTONE (*Enterococcus faecium*) NA
FREQUÊNCIA DE ALIMENTAÇÃO DE LARVAS DE
PIAUÇU *Megaleporinus macrocephalus* (GARAVELLO &
BRITSKY, 1988) SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E
RESISTÊNCIA À PATÓGENOS**

Trabalho julgado para a obtenção do grau de Engenheiro de Pesca do Curso de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Pará, Campus de Bragança

DATA DE AVALIAÇÃO:

CONCEITO:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Alberto Martins Cordeiro
FEPESCA/IECOS/UFPA - Orientador

Prof. Me. Ítalo Antônio de Freitas Lutz

Prof. Dr. Joel Artur Rodrigues Dias

Bragança

2022

"O Branco das nuvens e o azul do céu... A ti
Paysandu serei sempre fiel!"

José Simões

DEDICATORIA

Dedico à minha noiva, Bárbara Cristina, que com todo cuidado e amor me acompanhou e me fez vencer etapas e desafios grandiosos em minha vida acadêmica! Dedico com todo o amor que você merece!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me conceder a oportunidade de ter ingressado em uma universidade pública e de renome como a UFPA. Sem a sustentação D'Ele, e toda a sua graça e misericórdia, jamais teria chego nesta fase, visando a conclusão do curso!

Agradeço também à minha família, sobretudo ao meu avô Edilson de Souza Vieira, que começou a investir nos meus estudos desde criança, e até o último dia de sua vida seguiu me dando a oportunidade de estudar em uma escola particular, para que eu tivesse as melhores condições, através dos estudos. Também agradeço à minha avó, Maria da Conceição Bastos Vieira, por também continuar o investimento nos meus estudos após a partida do meu avô. Uma verdadeira guerreira e vencedora!

Ao meu pai, Rondinely Edilson Bastos Vieira, que apesar de não ter condições de pagar meus estudos, sempre foi um assíduo incentivador para que eu pudesse entrar em uma faculdade pública, me formar e ser bem sucedido. À minha mãe, Alvenira Ramos Santarém da Piedade, que me acompanhou durante os 6 anos de curso, me recebendo em Bragança e dando o melhor aconchego que pude receber.

À minha noiva, Bárbara Cristina Santos de Brito, também Engenheira de Pesca, que desde 2017 esteve presente em minha vida, me dando forças para não desistir, lutando junto comigo nas disciplinas da vida, e me trazendo refúgio aos dias difíceis. A ti, dedico todo o meu amor!

Aos meus companheiros de trabalhos acadêmicos, presentes desde 2017, Arthur e Jean! Obrigado por toda a parceria e cumplicidade nesses anos de curso, estarão sempre juntos em meu coração!

A meu co-orientador, Francisco Alex (o Chico), que teve todo o cuidado e compreensão, do início ao fim deste trabalho. Agradeço por todo o ensinamento!

Ao meu orientador, Carlos Cordeiro, que partilhou toda a compreensão e carisma comigo desde sempre, obrigado também por todo o ensinamento e direcionamento!

Ao Laboratório de Probióticos, por todo o apoio para o amplo desenvolvimento deste trabalho!

A Mayra, minha primeira co-orientadora, responsável por me ensinar a escrever e ler artigos, me guiando nos caminhos iniciais de minha vida acadêmica!

E ao grupo PET Engenharia de Pesca, com meu tutor Marcos Ferreira Brabo, que me ajudou a vivenciar experiências grandiosas na faculdade!

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
1.1 Revisão da literatura	10
1.1.1 A Produção de pescado mundial e no Brasil	10
1.1.2 Enfermidades em organismos cultivados	12
1.1.3 <i>Enterococcus faecium</i>.....	18
1.1.4 Aspectos gerais da larvicultura e manejo alimentar	20
1.1.5 Formas de manejo.....	21
1.1.6 Piaçu (<i>Megaleporinus macrocephalus</i>).....	24
2 OBJETIVOS.....	24
2.1 Objetivo geral	27
2.2 Objetivos específicos.....	27
3 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28
RESUMO.....	41
ABSTRACT	41
3 INTRODUÇÃO.....	42
4 MATERIAL E METODOS	43
4.1 Obtenção e conservação das larvas.....	43
4.2 Desempenho produtivo	43
4.3 Infecção por <i>Aeromonas hydrophila</i>.....	44
5 ESTATÍSTICA.....	44
6 RESULTADOS	44
7 MICROBIOLOGIA.....	46
8 DISCUSSÃO.....	47
CONCLUSÕES DO TRABALHO	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO	51

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um imenso potencial no que tange ao desenvolvimento do setor aquícola do país, não somente pelas suas favoráveis condições hídricas, mas também por um mercado consumidor acentuado, bem como o apoio de setores que visualizam esta atividade como uma alternativa no âmbito da exploração sustentável de espécies (VALENTI et al., 2021). Neste sentido, a piscicultura desponta como alternativa à pesca, onde um manejo adequado das espécies de criação torna-se essencial, sobretudo pelas intensas variações ambientais e no manuseio que as espécies são submetidas em todas as fases (HONORATO, 2019).

A obtenção de pescado com proteína de qualidade na piscicultura está intrinsicamente relacionada ao emprego de práticas de manejo adequadas que estão relacionadas na escolha e seleção da dieta (suprimento de alimento adequado às fases de criação da espécie alvo), manutenção de boa qualidade de água e, principalmente, no manejo nas diferentes fases, sobretudo a larval (BARROS et al., 2020; CAMPELO et al., 2020). No qual, na fase larval é o estágio desenvolvimento do animal mais crítico, que está vulnerável às variações do sistema de produção, transição alimentar exógena e desempenho fisiológico, que dessa forma se faz necessário técnicas adequadas que supram o fortalecimento dessa fase, principalmente aos aspectos nutricionais essenciais que garantem maiores taxas de sobrevivência e saúde desses animais (PEREIRA et al., 2016).

Para o sucesso na piscicultura, em especial na larvicultura, depende da manutenção de boas condições do sistema imunológico das espécies produzidas, o que reflete na prevenção de doenças que muitas tendem a sofrer, o que ocasiona morte e, conseqüentemente, perdas expressivas na produção (LOPES et al., 2020).

Dessa forma, alternativas ao uso de antibióticos nas produções aquícolas vêm sendo difundidas nos últimos anos, de forma a contribuir com as melhorias nos índices zootécnicos das criações (SANTOS-JUNIOR et al., 2016).

A utilização de dietas enriquecidas com probióticos na alimentação de espécies de peixes denota uma prática benéfica, estimulando o sistema imunológico dos animais, aumentando a sua higidez e que confere maior resistência à doenças comuns na piscicultura (VIEIRA & PEREIRA, 2016). É importante ressaltar que fatores estressantes no ambiente de

criação como as altas densidades de estocagem, baixa qualidade de água, manejo produtivo e nutricional errôneos são condicionantes para a avaliação da saúde do animal cultivado, onde muitos peixes passam a ter a sua microflora intestinal avaliadas em diversas pesquisas com utilização de probióticos (FERREIRA et al., 2018; DIAS et al., 2019; SOUSA et al., 2019).

A espécie piau (ou piaçu) *Megaleporinus macrocephalus* (GARAVELLO & BRITSKY, 1988) apresentou cerca de 200 kg que foram exportadas pelo Brasil no ano de 2019, fazendo desta espécie um importante produto no cenário aquícola brasileiro (PEIXE BR, 2020). Entretanto, são escassos os estudos referentes a esta espécie, tornando de suma importância pesquisas que venha a agregar, sobretudo, na inserção de tecnologias que possam alavancar seu desenvolvimento na atividade aquícola.

Dessa forma, a inclusão de probióticos nas dietas suplementadas que espécies podem influenciar benéficamente nos parâmetros zootécnicos dos animais, além de conferir resistência à patógenos pela modulação do sistema imune. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a frequência alimentar com probiótico autóctone (*Enterococcus faecium*) na larvicultura de piaçu (*Megeporinus macrocephalus*) (GARAVELLO & BRITSKY, 1988) sobre o desempenho produtivo e resistência à bactéria *Aeromonas hydrophila*.

1.1 Revisão da literatura

1.1.1 A Produção de pescado mundial e no Brasil

No atendimento às necessidades humanas de consumo de proteínas de origem animal, a produção de pescado é uma atividade em exponencial crescimento tanto no âmbito nacional, quanto mundial, segundo dados da FAO (2020) a produção global atingiu aproximadamente 179 milhões de toneladas no ano de 2018, com a aquicultura responsável por 46% deste total, sendo importante frisar que os mesmos dados também mostram que o pescado mais produzido foi o peixe, ressaltando a importância deste grupo em termos de produção.

No Brasil, a aquicultura passa a demonstrar um crescimento cada vez mais dinâmico que só no ano de 2018 atingiu 579 mil toneladas de pescado, que destaca as principais atividades: piscicultura, carcinicultura e malacocultura com crescimento de 9,27% entre os anos de 2017 e 2018 (BRABO et al., 2016a; ANDRADE, 2020)

Sobretudo na piscicultura, é aonde os incentivos a atividade vêm se apresentando cada vez mais presentes, consequente se sua produção em mais de 519 mil toneladas, no ano de 2018, que fica à frente da carcinicultura que atingiu 45.759 toneladas, no mesmo ano (IBGE, 2019; ANDRADE, 2020). No qual, o seu potencial de crescimento se refere às condições hídricas do país, que compõe 5,3 milhões de hectares de lâmina d'água, além das condições climáticas favoráveis para a atividade (AYROZA *et al.*, 2006; MARTINS & YOSHITOSHI, 2003).

A piscicultura no Brasil vem apresentando aspectos promissores no âmbito econômico e sustentável, esse reflexo são favoráveis aos índices produtivos expresso em números que apresentados frente ao crescimento da atividade, chegou a cerca de 5% em relação aos anos de 2018 e 2019 (PEIXE BR, 2020). A criação de Tilápia do Nilo segue despontando como a principal espécie de peixe produzida no país, onde sua participação na produção total passou de 57% no ano de 2019 para 60,6% no ano seguinte (PEIXE BR, 2021).

As exportações da piscicultura brasileira vêm apresentando significativos aumentos em seus índices, chegando a registrar crescimento de 26% entre os anos de 2018 e 2019, onde no último ano as exportações oriundas da piscicultura chegaram a 6.543 toneladas. Dentre as espécies mais exportadas, a tilápia (*Oreochromis niloticus*), espécie como a maior em termos de quantidade, representando 81,35% do total, sendo necessário frisar que os pias (*Leporinus* sp.) apresentaram exportações que atingiram 0,20 toneladas no último ano (COMEXSTAT, 2020).

Para o avanço do setor piscícola o estabelecimento de um manejo adequado faz-se cada vez mais essencial. Muitos são os aspectos considerados para o sucesso da produção que perpassam desde a qualidade limnológica da água a ser utilizada até a alimentação. Diversos avanços tecnológicos vem sendo implementados em vários sistemas de criação de peixes em cativeiro, sendo eles na reprodução, alimentação e o próprio manejo por parte do piscicultor, entretanto, alguns gargalos precisam de estratégias para resolução (BEERLI *et al.*, 2004; MINUCCI *et al.*, 2005).

O Brasil dispõe de uma diversidade de espécies nativas com potencial a serem exploradas na piscicultura, e nessa perspectiva, tal desenvolvimento está atrelado acentuadamente aos aspectos nutricionais a serem oferecidos ao animal, visando proporcionar nutrientes, que sejam essenciais para o seu amplo desenvolvimento, sobretudo desde as primeiras etapas da criação, como a larvicultura (LOBATO *et al.*, 2017; MORO *et al.*, 2013).

A larvicultura denota-se como uma fase de desempenho animal a ser analisada no âmbito do manejo ideal, por constituir a etapa de maior fragilidade do organismo. Nessa fase, observa-se elevadas taxas de mortalidade em diversos sistemas produtivos, principalmente nos sistemas intensivo e super-intensivo. São diversos os coeficientes relacionados à letalidade nesta etapa do manejo, sobretudo, o estresse que tendem a causar alterações nos parâmetros de qualidade de água, além de possíveis infecções por patógenos oportunistas, levando a perda da produção e econômica (ABE et al., 2015; EIRAS, 2016).

No Brasil, boa parte dos produtores praticam uma larvicultura semi-intensiva, ao ar livre, onde após essas larvas passarem pelo consumo do saco vitelínico são depositadas em lagoas anteriormente preparadas e fertilizadas. Entretanto, a estocagem deste animal em sua fase larval diretamente em tanques afeta na sua taxa de sobrevivência (considerada baixa), o que torna a larvicultura em sistemas intensivos como uma alternativa viável, uma vez que antes de passarem pelo manejo de criação tradicional, os animais são monitorados de forma intensiva em laboratórios até o seu povoamento em tanques de maiores dimensões, manejo esse que garante elevadas taxas de sobrevivência e homogeneidade dos lotes (JOMORI et al., 2003; JOMORI et al., 2005).

Outro aspecto relevante está ligado à manutenção das condições sanitárias do animal, dessa forma o fornecimento de uma alimentação ideal para as espécies nos sistemas de criação é essencial para a diminuição das perdas na produção, sobretudo na larvicultura. Neste sentido, a utilização de micro-organismos vivos na dieta de espécies apresentam-se como importantes alternativas para os benefícios produtivos no manejo, no que diz respeito ao controle de doenças causadas pelo estresse decorrente na etapa da larvicultura (ALY et al., 2008; DIEMER et al., 2012).

Dentre os organismos vivos que podem ser ministrados, os náuplios de artêmia destacam-se como alternativas viáveis em virtude das suas reações benéficas ao organismo alimentado, como seus bons índices de proteína necessárias, além de serem obtidos de forma fácil pelos produtores no país. A utilização destes micro-organismos reflete na viabilização da criação de peixes, ocasionando melhorias no sistema imunológico das espécies (GATLIN III et al., 2006; SILVA & MENDES, 2006).

1.1.2 Enfermidades em organismos cultivados

O crescimento produtivo adequado da aquicultura ressalta a importância de se estabelecer condições ideais para a criação das espécies, sobretudo pela preservação das condições sanitárias do animal (especialmente nas fases preliminares da criação). Nesse contexto, a fase larval e de alevino são as que mais padecem com enfermidades e taxas de letalidades na piscicultura, tendo em vista fatores como condições nutricionais e de qualidade de água inadequadas, que ocasionam o estresse produtivo, que favorece o aparecimento e disseminação de doenças (PERINO *et al.*, 2017; SANTANA *et al.*, 2017; TAVARES-DIAS *et al.*, 2013). Observando o crescimento da piscicultura brasileira, é importante frisar que para o sucesso das respectivas produções faz-se necessário um manejo adequado desde as fases iniciais (larvicultura) até os estágios finais de comercialização, perpassando por itens como adensamento adequado e nutrição ideal (FORTUNATO; MELO; MENDES, 2020).

Pesquisas apontam que as enfermidades afetam de forma considerável o desempenho da atividade piscícolas, tais como as bacterioses em diversos sistemas de criação de tilápia. Segundo dados de LEIRA *et al.* (2016), placas de cultura de tilápias apresentaram prevalência de 2,5% a 10% de *Aeromonas hydrophila*, que afetam espécies de peixes que acabam por sofrer letalidade entre 2 a 10 dias após o início dos primeiros sinais clínicos.

Um dos principais catalisadores para o aumento no número de espécies que apresentam taxas consideráveis de enfermidades, bem como de letalidades, no sistema de produção está intrinsecamente relacionado ao estresse nas espécies pertencentes ao sistema produtivo (OBA; MARIANO; SANTOS, 2009). Tendo em vista o crescimento aquícola como sendo acentuado nos últimos anos, obter conhecimento sobre os fatores que afetam a homeostase animal dentro do ambiente de cultivo é fundamental, visando a obtenção de resultante positivos nas produções dos mais variados sistemas de cultivo (DE MORAES *et al.*, 2017).

Em um ambiente produtivo, as espécies cultivadas apresentam suscetibilidades a fatores estressantes, podendo esses serem: a) químicos, resultante de agentes como concentrações de oxigênio reduzidas e pH inapropriado; b) físicos: como o uso de temperatura ou luminosidade inapropriadas; c) biológicos: competição por espaço, predadores ou alimentação imprópria; além de fatores com o manejo em si, perpassando por problemas com o confinamento, biometrias, transporte, entre outros. Dessa forma, os produtores necessitam de uma atenção mais minuciosa em suas criações, visando melhorias em seus empreendimentos para garantir a minimização do impacto nas suas produções (KUBITZA, 2013; SADO, 2009).

Para se evitar indevidas ocasionalidades a adoção de BPM's se faz necessário para a aquicultura sustentável, a fim de se obter um produto de qualidade sem a dependência ou mínimo uso de químicos no sistema de produção (FERREIRA & BARCELLOS, 2008; KUBITZA, 2013).

A necessidade no fornecimento de condições favoráveis para o amplo desenvolvimento das espécies pertencentes aos sistemas de cultivo acaba por gerar atitudes mais redobradas e específicas nos aspectos relacionados ao manejo, tais como protocolos avaliativos no auxílio de produtores às BPM's (BARROS et al., 2020). Controlar os fatores de homeostase animal é fundamental para o sucesso na piscicultura e o desenvolvimento de pesquisas e tecnologias voltadas a este setor, aliado a orientações básicas e treinamento do profissional responsável por aquela atividade, acaba por se tornar um propagador da positividade nas produções piscícolas (ISHIKAWA et al., 2020).

No qual, na maioria dos estabelecimentos de produção semi-intensiva e intensiva, o um manejo aplicado de forma equivocada, ocasionam uma vulnerabilidade de agentes patogênicos, como *Aeromonas* spp., *Streptococcus* spp. e *Vibrio* spp e *Escherichia coli* (GAZAL et al., 2020).

Com isso, a importância de realizar produções racionais e sustentáveis de peixes, sobretudo de espécies consideradas nativas, torna-se cada vez mais necessário, onde estudos como de SOUZA et al. (2018) abordam aspectos relacionados ao fortalecimento do sistema imunológico destes indivíduos pertencentes aos sistemas produtivos, através de desafios bacterianos, visando obter resultados que venham a ajudar na obtenção de melhorias dos desempenhos produtivos.

Um ambiente piscícola que sofre intensas influências na busca por resultados expressivos, acaba por, de forma consequente, apresentar diversas intensidades cada vez mais incisivas, o que implica em variados problemas a serem observados, tais como efluentes em quantidades exacerbadas geradas, além do surto de doenças (em especial de bacteriose) (FERREIRA; BARCELLOS, 2008). Bactérias patogênicas são associadas, na maioria dos casos, as infecções oportunistas em peixes com sistema imunológico em depleção, em virtude da debilidade sanitária no ambiente de criação, ocasionando estresse aos animais em confinamento (ASSIS et al., 2017; DOAN et al., 2018). Estima-se que surto de doenças bacterianas já tenha atingido cerca de 82% dos peixes de criação (LOCH et al., 2017; TAVARES et al., 2018). É importante ressaltar que independente do agente bacteriano presente

no ambiente de criação, um dos principais sintomas é a inapetência ou falta de apetite, o que torna o tratamento com antibióticos inviabilizado em alguns casos (TAVARES & PALHARES, 2011).

Por outro lado, a larvicultura das espécies produzidas torna-se uma das fases mais críticas, onde ocorre maior suscetibilidade nas etapas dos processos produtivos da piscicultura, onde as larvas passam por intensas sensibilidades, sobretudo na manipulação, parâmetros físico-químicos e nutrição do animal, o que em condições inadequadas, acarreta no aparecimento das doenças, sobretudo por bacterioses (FERREIRA, 2009).

É necessário que se estabeleçam condições de saúde ao animal consideradas ideais não somente no que tange as condições ambientais, mas também aos aspectos relacionados ao manejo alimentar e nutricional empregado por parte do produtor, em especial nas fases iniciais de cultivo (larva, alevino e juvenil) (TAVARES-DIAS et al., 2019). A busca por erradicar doenças que acabam por se fazer presentes nos ambientes de cultivo, leva muitos produtores a se utilizar de forma indiscriminada de antibióticos, como forma de tratamento das enfermidades das peixes acometidas (PONTES, 2017).

A inclusão de antibióticos no âmbito da nutrição animal teve seu início a partir de meados do século XX, mas somente na década de 1960 as reações negativas em seus usos indiscriminados por parte de produtores passaram a ser observadas, em virtude da resistência de cepas empregadas e as posteriores reações da microbiota intestinal da espécie utilizada, o que desde então passaram a se tornar cada vez mais frequentes (RIBEIRO *et al.*, 2008).

Tipicamente, o uso de antibióticos nos sistemas de criação manifesta como características principais a sua funcionalidade no tratamento de doenças que tendem a atingir as espécies no cultivo. Dentre os agentes microbianos que são utilizados no âmbito da piscicultura citam-se as tetraciclínas (em especial a oxitetraciclina), as quinolonas (fluoroquinolonas), fármacos sulfa potencializados, derivados de cloranfenicol, além de derivados da penicilina, entretanto, apenas o florfenicol apresenta-se liberado para uso no país (AZEVEDO et al., 2016; RIGOS & TROISI, 2005; LEIRA *et al.*, 2016).

É importante que seja ressaltado que o uso de antibióticos (bem como de outros agentes químicos) como forma de tratamento de enfermidades nas pisciculturas por parte dos produtores pode vir a ocasionar fatores negativos em suas produções, dentre eles a possibilidade de casos relacionados a resistências de bactérias de caráter patogênico (AMÉRICO et al., 2013). O manejo efetuado de forma indiscriminada é originário da falta de conhecimento do agente

causador de determinada enfermidade acometida, gerando o emprego de agentes químicos que podem afetar não apenas as espécies ali produzidas, mas quem, posteriormente, tenderá a consumi-las (JESUS, 2017).

O uso indiscriminado de antibióticos para o tratamento de doenças, presentes nos sistemas de cultivo, em especial na fase inicial de criação, demonstram diversos insucessos no que tange a erradicação das enfermidades, onde os antibióticos utilizados acabam por não apresentarem distribuição uniforme nas espécies de peixes cultivadas por produtores. Além disso, a utilização desse tipo de medicamento em peixes pode fazer com que a faixa terapêutica necessária para um determinado tratamento não seja atingida, ocasionando a pressão de seleção para resistência antimicrobiana (PRICE et al., 2019; ST-HILAIRE et al., 2019).

Em contrapartida ao uso indiscriminado de antibióticos nas produções aquícolas (em especial nos sistemas de criação de peixes), o uso de prebióticos (cuja principal ação é estimular o desenvolvimento de bactérias benéficas presentes no trato intestinal do animal) e simbióticos (formada pela associação de probióticos e prebióticos) são consideradas alternativas, visando a saúde e o bem estar animal (FLESCH *et al.*, 2014).

Tendo em vista as alternativas para o uso tradicional e indiscriminado de antibióticos, em virtude do surgimento de bactérias mais resistentes a uso destes mecanismos empregados, o uso de probióticos figura como um dos mais promissores (AZEVEDO et al., 2016; CABELLO et al., 2013). Segundo JATOBÁ & MOURIÑO (2015), a utilização dos probióticos vem se difundido como uma medida profilática eficiente, sobretudo por garantir a manutenção das condições favoráveis do sistema imunológico dos animais, aumentando, assim, a produtividade aquícola.

Considerado uma alternativa frente a utilização de medicamentos provenientes de compostos químicos, bem como a vacinas, a utilização dos probióticos denotam-se como importante na manutenção das condições imunoprofiláticas na criação de organismos aquáticos. Conceitualmente, a expressão “probióticos” faz referência ao gerenciamento de bactérias presentes no trato gastrointestinal do animal, sendo estas de potencial benéfico para as condições sanitárias do hospedeiro (DE-PAULA *et al.*, 2018; RINGØ, 2020)

Os probióticos são produzidos por um dos protozoários, cuja principal função recai na capacidade de estimular outro para melhoramento da sanidade animal através dos efeitos benéficos decorrentes na presença em sua flora intestinal, onde muitas vezes acabam por serem aplicados a suplementos alimentares, por meio da inclusão à ração animal. É importante

ressaltar que a importância dos probióticos levaram a estudos mais específicos, onde termos como paraprobióticos (células inativadas de probióticos) e pós-bióticos (produtos metabólicos produzidos por células ativas de probióticos) acabaram por se fazer presentes, mostrando a abrangência de estudos sobre estes micro-organismos vivos (BARROS et al., 2019; KHALED, 2020).

Dentre os probióticos mais importantes no aspecto funcional, as bactérias ácido lácticas se destacam, sobretudo pelas suas características de desempenho na atuação da prevenção do crescimento de micro-organismos patogênicos. São citadas as espécies *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium* e *Bifidobacterium spp.* como correspondentes a esta classe de bactérias (GIAZZI et al., 2020; SIMEONI et al., 2014).

Os benefícios do uso dos probióticos denotam-se cada vez mais amplos, onde, segundo JATOBÁ et al. (2008), eles também podem apresentar linha de atuação na produção de enzimas digestivas suplementares. Seu desempenho como catalisadores no sistema fisiológico do animal resulta em otimizações nos seus aspectos zootécnicos, ou seja, os índices de produção acabam por apresentar-se melhor do que os utilizados por antibióticos.

A diversidade na utilização de bactérias com potencial probiótico o torna ainda mais importante como alternativa de uso, entretanto, é de suma importância salientar que a obtenção de resultados positivos, do ponto de vista de eficácia no uso destes probióticos, perpassa por testes que vão desde o isolamento a experimentação de micro-organismos com cepas pertencentes ao respectivos animais (DIAS et al., 2019).

No Brasil, há a predominância de uma regulamentação de suplementos alimentares, onde são listadas determinadas linhagens de micro-organismos para fins de uso probiótico: *Bacillus coagulans*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactococcus lactis* (ANVISA, 2017).

Inúmeras fazendas criação de peixes enfrentam problemas com ocorrências de enfermidades em suas produções, sejam quaisquer os sistemas de produção empregados, onde o agravamento destes problemas necessita de controles imediatos para a erradicação de perdas consideráveis significativas, o que tende a afetar o desenvolvimento econômico do setor. Neste sentido, a cadeia produtiva da piscicultura tende a apresentar ganhos a partir da inserção das

bactérias probióticas na alimentação animal, contribuindo economicamente, além de oferecer otimização no setor produtivo (GATESOUBE, 2007; LIU et al., 2009; PROL et al., 2009).

Além dos benefícios nutricionais, aspectos como a manutenção do ambiente adequado para o animal, o controle de compostos nitrogenados e redução de material orgânico permitem aos probióticos adquirirem características de biocontroladores e biorremediadores. Estes quesitos mostram o quão é necessário o produtor adquirir conhecimentos na utilização do probiótico, visando, essencialmente, a otimização do seu setor produtivo, garantindo, assim, o sucesso na sua produção, vinculado ao bem estar animal (ALMEIDA et al., 2019).

Diversos trabalhos exploram questões relacionados ao uso de bactérias com potencial probiótico nas espécies de caráter comercial criadas nos mais diversos sistemas de cultivo, bem como nos diferentes estágios de crescimento, tais como CASTRO et al. (2021) que utilizou bactéria do gênero *Bacillus* em dietas de pós-larvas de tilápia do Nilo e de SOUSA et al. (2020) que enriqueceu náuplios de artêmia com probiótico comercial no estágio larval do peixe-anjo.

São ressaltadas diversas espécies que estiveram presentes em trabalhos no âmbito da aquicultura, em especial da piscicultura, publicados sobre o uso de probióticos considerados autóctones, dentre elas: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, a supracitada *Enterococcus faecium* e os *Bacillus velezensis* (PAIXÃO et al., 2019). Tal inclusão de micro-organismos com potencial probiótico, tem ocasionado a obtenção de índices satisfatórios nas pisciculturas, sobretudo em melhorias na conversão alimentar de espécies, além do desempenho de funções consideradas profiláticas, levando a promoções de crescimentos positivos nos diversos sistemas de cultivo (TORRES; MANCILHA, 2020).

1.1.3 *Enterococcus faecium*

As bactérias do gênero *Enterococcus* compreendem um amplo grupo de espécies constituídas por Gram positivas, apresentando como outras características o fato de se utilizarem de compostos químicos de origem orgânica como sua fonte energética com um metabolismo fermentativo, onde o seu produto considerado final no processo bioquímico de fermentação da molécula de glicose é o L-ácido láctico (SVEC; DEVRIESE, 2015). *Enterococcus faecium* é uma bactéria ácido-lática (BAL) capaz de apresentar características

probióticas e bioconservadoras, onde acabam por inibir o amplo desenvolvimento de micro-organismos supracitados (isso se dá devido aos seus produtos finais de fermentação anteriormente mencionados), onde além disso, elas também agem na competição por sítios (locais) de ligações na microbiota intestinal animal, provocando uma resposta imune a um dado indivíduo (FILHO, 2016).

A espécie *Enterococcus faecium* são bactérias que apresentam como suas principais características os aspectos que recaem em sua resistência, sobretudo a intensas variações de parâmetros físicos como temperatura e pH. Estas bactérias são produtoras de bacteriocinas capazes de causar uma determinada inibição no desenvolvimento de demais bactérias patogênicas em sítios específicos do hospedeiro (TOSONI et al., 2019). É importante ressaltar, que entre os principais compostos produzidos por espécie probióticas, incluindo a estirpe *E. faecium*, está o ácido láctico que contribui para um ambiente inóspito a bactérias patogênicas, além disso são parte integrante da microbiota saudável e são usadas, principalmente, na melhorias dos aspectos vinculativos ao crescimento animal em conjunto com o seu fortalecimento imunológico, tornando-o, a partir de seu uso, resistente a patógenos que possam vir a acometer determinados indivíduos (WU et al., 2017).

A utilização de *Enterococcus faecium* se tornou bastante difundida em estudos e aplicações voltadas ao âmbito probiótico por sua significativa importância em seus interesses voltados aos aspectos de propriedade bioquímica e de melhorias em uma dada área fisiológica/morfológica, bem como na sua capacidade de degradação proteica e lipídica, além de demais atividades de cunho enzimático (REHAIEM et al., 2014). A importância na utilização desta bacteriocina, sobretudo pelas suas funcionalidades favoráveis para o uso em um dado manejo animal, reflete na obtenção de resultados mais expressivos e concretos em uma produção, onde ela acaba, também, por exercer uma capacidade antagônica, o que é fundamental em experimentos com animais, haja vista o seu permissionamento em controlar bactérias indesejáveis em uma dada microbiota intestinal (CALAÇA et al., 2020).

Atualmente estudos foram realizados utilizando a bactéria *Enterococcus faecium* como potencial probiótico em um dado estudo e experimento animal, tais como FUJIMOTO et al. (2017) que utilizou e isolou a referida bactéria da espécie Acará-bandeira e verificou que a mesma apresentou viabilidade *in vitro*, capaz de resistir à condições desfavoráveis, semelhantes

a ser encontrado in vivo. Outro trabalho que também utilizou *E. faecium* foi o de PAIXÃO et al. (2018) que alimentou juvenis de uma dada espécie de peixe com ração suplementada de diferentes concentrações do probiótico *E. faecium* durante 90 dias experimentais. Outro aspecto importante desse gênero, se destaca pela sua rápida capacidade de colonização em detrimento as bactérias heterotróficas (DIAS et al., 2019; SOUZA et al 2019). Esta característica pode estar relacionada à alta taxa de crescimento, sendo um fator fundamental para viabilidade das bactérias probióticas (VINE et al., 2004).

Além disso, A inibição contra patógenos, é uma das características mais desejáveis para uma bactéria ácido láctica ser empregada na aquicultura (CORNÉLIO et al., 2013; DIAS et al., 2018). Estudos in vitro relataram Antagonismo contra *A. hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus durans*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, foram relatados também com *E. faecium* (VIEIRA et al., 2013; EL-JENI et al., 2016; DIAS et al., 2019; MAO et al., 2020). Dessa forma, demonstra o potencial dessas bactérias do gênero *Enterococcus* como uso probiótico na aquicultura.

1.1.4 Aspectos gerais da larvicultura e manejo alimentar

A execução de um bom manejo, sobretudo na larvicultura, é de suma importância para o desenvolvimento produtivo, visando, principalmente, a obtenção de bons índices zootécnicos do animal. Neste sentido, os aspectos que influenciam diretamente na busca por sucesso em termos de produção dentro da piscicultura passam por estratégias de manejo essenciais, sendo elas a densidade de estocagem, a taxa de alimentação e a frequência alimentar a ser aplicada, onde todos estas três estratégias interferem nos índices de sobrevivência e no comportamento do animal (ABE et al., 2015; DING et al., 2017).

Em relação aos aspectos referentes a frequência alimentar ideal que deve ser praticada nos sistemas de cultivo, é de suma importância ressaltar de se empregar uma alimentação em quantidades necessárias e que esta seja praticada de forma adequada para o desenvolvimento do peixe, onde tanto valores superiores quanto inferiores em termos nutritivos podem afetar a produção (OKOMODA et al., 2019).

A partir da adoção de um manejo com alimentação sendo efetuada apresentando índices maiores do que o recomendado (sob conceito de superalimentação) fatores como a possível deterioração da qualidade da água utilizada no sistema de criação podem tender a se fazer

presentes em virtude do excesso de alimentação empregado. Este método apresenta-se como um manejo inadequado às condições sanitárias do animal, sendo reflexo da diminuição das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) e no acúmulo dos níveis de amônia presentes no ambiente de produção (NG et al., 2000; SCHNAITTACHER *et al.*, 2005).

Além disso, as condições inferiores de alimentação empregada (subalimentação) no sistema de criação também podem resultar em prejuízos na produção, sobretudo pelo regime em que os peixes que estão presentes no cultivo tender a ser mais duradouro, levando à fome, estresse e posteriores perdas na produção (BOOTH et al., 2008; KÜÇÜK et al., 2014; OH & MARAN, 2014). Dessa forma, a necessidade de se definir uma frequência de alimentação ideal apresenta-se como extremamente importante para o desenvolvimento e otimização na produção apresentada nos demais sistemas de criação.

1.1.5 Formas de manejo

Para o sucesso na piscicultura, o profissional responsável pelo desenvolvimento da atividade deverá se atentar a diversos fatores, sendo estes os relacionados ao manejo alimentar a ser empregado para a espécie pertencente ao seu sistema de criação, onde o crescimento de seus indivíduos está intrinsecamente relacionado a forma de oferta da ração ministrada, em quantidade bem estabelecidas e com sua frequência ideal durante o dia, visando o atender as suas condições metabólicas (PAULA et al., 2020). Neste sentido, o estabelecimento de um manejo ideal denota-se de fundamental importância visando a contribuição da saúde animal, além de outros fatores como manutenção da boa qualidade de água, o que acaba influenciando nas melhorias no sistema imunológico do animal (CARDOSO, 2017).

Para o emprego de um manejo ser considerado adequável, é importante que o alimento a ser ofertado às espécies produzidas sejam ideais, sobretudo do ponto de vista nutricional, pois é fundamental que se haja o conhecimento dos níveis de aproveitamento máximo dos nutrientes assimilados pelas espécies, nos mais variados estágios de desenvolvimento, visando a elaboração de dietas consideradas necessárias para aquele animal (PAULINO, 2018). Dessa forma, obtendo-se conhecimento do manejo e dos nutrientes adequados a cada espécie, ou seja, fatores relacionados a formulação de uma dieta ideal relacionado à qualidade dos ingredientes ali presentes, o produtor pode almejar bons resultados em suas produções (GODOY, 2019).

A determinação de fatores relacionados à taxa de alimentação empregada nos ambientes de piscicultura também é considerado um fator primordial na busca por índices zootécnicos

positivos nas criações por parte dos produtores, onde o estabelecimento de porcentagem alimentar ofertada e frequência alimentar acaba por ser essencial na busca por lucros das produções (SIGNOR et al., 2018). Os sucessos nos ambientes produtivos perpassam justamente por ações que busquem a obtenção de índices produtivos efetivos, onde definir taxas de alimentação adequadas para a espécie que se está produzindo é fundamental para fatores não apenas relacionados ao índices zootécnicos, mas a viabilidade econômica produtiva (HERMES et al., 2021; JATOBÁ, 2018).

Sabe-se que exercer um manejo adequado dentro de um ambiente de sistema de criação de peixes é essencial para o sucesso da atividade piscícola, onde os casos de insucessos por parte de alguns produtores estão relacionados ao emprego inadequado de práticas alimentares ao animal, sendo necessário frisar que o fornecimento do alimento em frequências bem estabelecidas são importantes, sempre se atentando aos horários e dias para a domesticação das espécies no ambiente e nas demais condições abióticas do sistema de cultivo, tais como temperatura, qualidade da água, oxigênio dissolvido e entre outros (PORTO et al., 2020).

A determinação da melhor frequência alimentar a ser empregada nas espécies em confinamento é essencial, sobretudo por visar aspectos relacionados a sua sobrevivência e crescimento, sendo importante frisar que este fator possui influências significativas nas obtenções dos tamanhos das espécies a serem comercializadas, bem como a suas resistências a doenças (SEABRA et al., 2020; SILVA, 2018)

Toda produção de âmbito piscícola que perpassa pelos aspectos produtivos de juvenis de qualquer espécie de peixe que seja, deverá levar em consideração de gerar peixes de alta qualidade, ou seja, investirá de forma abrangente nessa qualidade larval, sendo sempre necessário levar em consideração que esta é a etapa mais difícil das fases de cultivo, em virtude da fase inicial de vida enfrentada e a dificuldade que este animal larval tende a aceitar em dietas de caráter micro e inerte (DA CONCEIÇÃO et al., 2009). É importante frisar que a iluminação é um fator extremamente importante no que tange o alcance do alimento ofertado por parte das larvas, sobretudo nas camadas superficiais (PICAPEDRA; SANCHES; LANSAC-TÔHA, 2018).

Em relação à alimentação, as larvas por apresentarem-se mais suscetíveis a enfermidades e demais fatores que podem ocasionar perdas no sistema produtivo, são recomendadas a oferta de alimento vivo (no caso plâncton), onde estes, nos últimos anos, vem se tornando bastante difundidos dentro do cenário piscícola, sobretudo pela boa aceitação, bem

como assimilação, deste alimento por parte das larvas (é válido ressaltar que este alimento deve ser condizente com a abertura da boca da larva, bem como levar em consideração fatores como a quantidade a ser ofertada e sua composição) (NASCIMENTO; PINHEIRO; SALMITO-VANDERLEY, 2021). É importante destacar o fornecimento de *Artemia* sp. como oferta de alimento ao período/estágio larval citado, onde estudos como de RAMOS (2011) e LUI et al. (2015) destacam esta inserção como benéfico ao crescimento das espécies produzidas, onde a partir de um dado crescimento deve-se ser efetuada uma transição alimentar, fator esse importante para a inserção de uma dieta inerte ao animal a ser produzido (CAMPELO et al., 2019)

É importante que a alimentação dos peixes nas fases que antecedem os períodos relacionados à forma jovem (juvenis) e fase de engorda, seja efetuada de forma específica, haja vista a suscetibilidade das doenças e demais fatores estressantes nestas fases, onde o valor proteico de um alimento vivo (sobretudo de artemia) acaba se denotando como bastante vantajoso na incorporação por parte das larvas a serem alimentadas, o que os auxiliam nas questões relacionadas à sensibilidade de variações dos parâmetros físico-químicos da água em seu ambiente e principalmente do manejo empregado (CAMPELO et al., 2020; EL-SEBAIE et al., 2014). Neste sentido, o emprego de uma dieta tomando como base alimentos vivos já apresentam as suas vantagens bem definidas nas produções, e o seu enfoque combinado com o uso de bactéria com caráter probiótico atenua os fatores de perdas nas produções e eleva o desenvolvimento do sistema imunológico animal, tornando-o mais forte às intensas variações do cultivo (FERREIRA, 2017).

Em vista disso, os náuplios de artemia enriquecidos com probiótico apresentam resultados positivos sobre o desempenho produtivo, sobrevivência, melhora do sistema imunológico, além de promover a modulação intestinal pela colonização bacteriana (AZEVEDO et al., 2016; VÁZQUEZ-SILVA et al., 2017; SOUSA et al., 2019).

Entres os organismos utilizados na alimentação das larvas a *Artemia* tem sido amplamente utilizada na aquicultura devido seu alto valor nutricional, tamanho adequado e a possibilidade de enriquecimento (SORGELOOS; DHERT; CANDREVA, 2001). Pode ser usada como transportador de partículas como nutrientes (gordurosos ácidos, vitaminas, etc.), substâncias antimicrobianas, vacinas e probióticos (ZIAEI-NEJAD et al., 2006). Administração de substâncias vivas, benéficas e bactérias não patogênicas no meio de cultura ou cultura de artemia pode ter efeitos positivos em peixes cultivados via melhoramento na microbiota intestinal, eliminando bactérias nocivas e melhorando o valor nutricional da artemia

(HAVENAAR, 1992; HINGO et al., 1992). O número de bactérias na artemia é exponencialmente aumentada no momento de incubação de artemia e processos de enriquecimento por nutrientes (RITAR et al., 2004). Também foi observado que no início estágios de desenvolvimento em larvas de peixes, o aumento do número de bactérias na microflora intestinal dos peixes pode estar associado com as bactérias em alimentos vivos (MAKRIDIS et al., 2000). Pode-se concluir que com o aumento do número de bactérias oportunistas no intestino do peixe, mortalidade torna-se mais na cultura intensiva dos primeiros estágios da vida de peixes e controle da população bacteriana na alimentação viva pode levar a maiores taxas de sobrevivência de larvas de peixes e lucratividade em incubatórios (OLAFSEN et al., 2001).

1.1.6 Piaçu (*Megaleporinus macrocephalus*)

O gênero *Leporinus* (pertencente à família dos Anastomídeos) possui grande representatividade, onde na literatura são descritas cercas de 60 espécies relativas a ele, sendo destacadas a sua ampla distribuição geográfica e sua importância seja para a pesca ou criação (JUNIOR et al., 2013). Mais recentemente forma descrita outras espécies da família agora totalizando pouco mais de 150 espécies (FRICKE et al., 2019). Apesar da abundância na descrição destas espécies, ressalta-se que este número é ainda maior (mas ainda não descritos, com pendências em questões taxonômicas de diversas espécies), tendo em vista trabalhos de coleta efetuados especialmente na bacia amazônica (BIRINDELLI & BRITSKI, 2009; BRITSKI et al., 2012). A maioria dos gêneros são compostos de relativamente poucas espécies válidas (menos de seis), *Leporinus* compreende aproximadamente metade de toda a diversidade da família (BURNS et al., 2017). Porque *Leporinus* é um grupo não monofilético (RAMIREZ et al., 2016; SIDLAUSKAS e VARI, 2008), tentativas recentes foram feitas para distinguir monofilético grupos de espécies que podem ser reconhecidos como gêneros distintos.

Assim, *Hypomasticus* foi incluído a oito espécies previamente alocadas em *Leporinus* (SIDLAUSKAS e VARI, 2008). Da mesma forma, *Megaleporinus* foi descrito para incluir nove espécies previamente reconhecidas em *Leporinus* e um em *Hypomasticus* (RAMIREZ et al., 2017), e agora é composto por *M. brinco* (endêmico da bacia do Rio de Contas). Dessa maneira, *Megaleporinus* foi diagnosticado principalmente na redução de o número de dentes (apenas três dentes em cada mandíbula) e a presença de um cromossomo sexual ZW. A maioria das espécies

incluídas em *Megaleporinus* mostram corpo grande, atingindo até 500 mm LS (ou um pouco mais) (RAMIREZ et al., 2017).

Dentre as diversas espécies representantes do gênero *Megaleporinus*, destaca-se *Megaleporinus macrocephalus* (GARAVELLO & BRITSKY, 1988), popularmente conhecida como piau (piaçu ou piavuçu), é uma das principais representantes da ordem Characiformes. É uma espécie habitante de regiões de climas tropicais, bem como caracterizada como bentopelágica, onde possui ampla distribuição na América do Sul, com ampla ocorrência nas bacias hidrográfica em especial a bacia amazônica e nas bacias do rio Paraná e Paraguai (REYNALTE-TATAJE et al., 2008; SANTOS et al., 2007).

As características morfológicas de *M. macrocephalus* vão de corpo alongado e fusiforme, seu hábito alimentar caracterizado como onívoro, o que garante à espécie a vantagem de fácil adaptação a dietas artificiais, refletindo na otimização do aspectos produtivos em seu manejo (JUNIOR et al., 2013; RODRIGUES & NAVARRO, 2006). Os aspectos alimentares da espécie reflete em crescimentos positivos na criação, além de uma boa conversão alimentar, onde tais características no manejo são abordados em diferentes trabalhos nos últimos anos (SIGNOR et al., 2007).

A fácil adaptabilidade da espécie *M. macrocephalus*, sobretudo nos aspectos referentes ao manejo alimentar supracitado, além do seu alto potencial reprodutivo, a torna bastante atrativa para o mercado, sobretudo em sistemas com produções intensivas e semi-intensivas (MINUCCI et al., 2005; NAVARRO et al., 2006). Além da piscicultura, a espécie também é bastante valorizada na pesca comercial de caráter esportivo, bem como no mercado de peixes ornamentais, tendo em vista o aspecto atrativo em sua morfologia (MELLO et al., 1999; REYNALTE-TATAJE et al., 2008).

Apesar de ser um peixe de boa qualidade e apresentar rusticidade, estudos referentes a otimização do manejo da espécie ainda são escassos, onde destacam-se pesquisas referentes aos aspectos nutricionais e questões com abordagem aos aspectos reprodutivos do animal (FARIA et al., 2008; FINKLER et al., 2010; GARAVELLO et al., 2001; AMARAL, 1999). Estudos referentes ao manejo da espécie também são poucos, onde informações acerca da qualidade de água na criação de piau são obtidos através dos próprios piscicultores (MINUCCI et al., 2005).

Um dos entraves para o desenvolvimento da produção de *M. macrocephalus* se dá pelas dificuldades na obtenção do filé da carne do pescado pelas indústrias de processamento, tendo em vista a presença de espinhos em “y” presentes na espécie. Além disso, a competitividade

com outras espécies de água doce amplamente utilizadas na piscicultura, aliado a escassez no conhecimento adequado do seu manejo, a impedem de crescerem de forma mais acentuada (BRABO et al., 2016a; SIGNOR et al., 2007).

Com a intensificação das produções oriundas da piscicultura, faz-se necessário a determinação de medidas de controle no manejo, visando a manutenção das condições sanitárias do animal, para que assim, sejam erradicadas as taxas de letalidade que comumente são encontradas nos sistemas de criação de diversos produtores pelo país. Dentre as etapas do manejo que mais sofrem com altos índices de mortalidade, a larvicultura apresenta-se como a mais predominante, sobretudo pela presença de patógenos que atingem as espécies, decorrentes de diversos fatores como estresse.

O emprego acentuado de antibióticos de forma indiscriminada nos setores piscícolas, cujo intuito era a erradicação das doenças em peixes, acabaram por gerar a resistência bacteriana, o que gerou a necessidade de alternativas para o controle de doenças, mantendo as boas condições de cultivo. Os probióticos, denotam-se como alternativas promissoras, tendo em vista a sua atuação no sistema imunológico dos animais (sobretudo na larvicultura), levando a consideráveis crescimentos na produção em decorrência do fortalecimento da saúde animal a posteriores patógenos que venham a ocorrer no cultivo.

2 OBJETIVOS

1.2 Objetivo geral

Avaliar os efeitos do fornecimento de náuplios de *artêmias* sp. enriquecidas com probiótico autóctone (*Enterococcus faecium*) e da frequência alimentar de larvas de piaçu (*Megaleporinus macrocephalus*) sobre os parâmetros de desempenho produtivo e resistência à bactéria patogênica.

1.3 Objetivos específicos

- Avaliar o desempenho produtivo de (Ganho de Peso; Ganho de comprimento total; Ganho de comprimento padrão; Taxa de crescimento específico (TCE); fator de condição de Fulton (K); Uniformidade lote; biomassa (g) e taxa de sobrevivência das larvas de piaçu (*Megaleporinus macrocephalus*) alimentadas com náuplios de artêmias enriquecidas com probiótico autóctone (*Enterococcus faecium*);
- Avaliar o potencial antagônico da inclusão de probiótico autóctone (*Enterococcus faecium*) sobre a resistência e sobrevivência das larvas de piaçu de (*M. macrocephalus*) submetidos a desafio sanitário com (*Aeromonas hydrophila*);
- Avaliar a microbiologia do trato intestinal das larvas de (*M. macrocephalus*) sobre a presença de colônias de bactérias heterotróficas totais e ácido láctico após o período com as dietas.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, G.B.; TAVARES, G.C.; PEREIRA, F.L.; FIGUEIREDO, H.C.; LEAL, C.A. Natural coinfection by *Streptococcus agalactiae* and *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Journal Fish Diseases**, v. 40, n. 1, p. 51–63, 2017.
- ABE, H. A. et al. *Pyrrhulina brevis* (steindachner, 1876) como uma nova opção para a piscicultura ornamental nacional: Larvicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 41, n. 1, p. 113–122, 2015.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Probióticos: construção da lista de linhagens probióticas. p. 1–14, 2017.
- ALMEIDA, R. DE; CHASIN, L. R. G.; MELO, N. F. Utilização de probióticos na aquicultura: Uma abordagem prática e científica. **Panorama Da Aquicultura**, v. 29, n. 176, p. 1–66, 2019.
- ALY, S. M.; MOHAMED, M. F.; JOHN, G. Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Research**, v. 39, n. 6, p. 647–656, 2008.
- AMÉRICO, J. H. P. et al. Piscicultura Em Tanques-Rede: Impactos E Consequências Na Qualidade Da Água. **Revista Científica ANAP Brasil**, v. 6, n. 7, p. 137–150, 2013.
- ANDRADE, A. S. Aquicultura Brasileira: A visão do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento a partir do Sistema de Registro Geral da Pesca e Aquicultura. **Research, Society and Development**, v. 9, p. 1–24, 2020.
- AYROZA, D. M. M. R; FURLANETO, F. P. B; AYROZA, L. M. S. Procedimentos para regularização de projetos de cultivo de peixes em tanques-rede no Estado De São Paulo. **Pesquisa & Tecnologia, Apta Regional**, v. 3, n. 2, p. 1–9, 2006.
- AZEVEDO, R. V. et al. Prebiótico, probiótico e simbiótico para larvas de *Trichogaster leeri* (Bleeker, 1852, Perciformes, Osphronemidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 3, p. 795–804, 2016.
- BARROS, C. P. et al. Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. **Current Opinion in Food Science**, v. 32, p. 1–8, 2019.
- BARROS, K. D. DAS N. et al. Protocolo para avaliação de boas práticas de manejo na piscicultura no estado do Pará: um estudo de caso. **Research, Society and Development**, v. 53, n. 9, p. 12, 2020.

BEERLI, E. L.; LOGATO, P. V. R.; FREITAS, R. T. F. DE. Alimentação e comportamento de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 1, p. 149–155, 2004.

BIRINDELLI, J. L. O.; BRITSKI, H. A. New species of the genus *Leporinus* Agassiz (Characiformes: Anostomidae) from the rio Curuá, rio Xingu basin, Serra do Cachimbo, Brazil, with comments on *Leporinus reticulatus*. **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2009.

BOOTH, M. A. et al. Effect of feeding regime and fish size on weight gain, feed intake and gastric evacuation in juvenile Australian snapper *Pagrus auratus*. **Aquaculture**, v. 282, n. 1–4, p. 104–110, 2008.

BR, P. Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR. **Associação Brasileira da Piscicultura**, 2021.

BRABO, M. F. et al. Cenário atual da produção de pescado no mundo , no Brasil e no estado do Pará : ênfase na aquicultura Current scenario of fish production in the world , Brazil and Pará State : emphasis on. v. 4, p. 50–58, 2016a.

BRABO, M. F. et al. A CADEIA PRODUTIVA DA AQUICULTURA NO NORDESTE PARAENSE, AMAZÔNIA, BRASIL. **Informações econômicas**, v. 46, n. 4, p. 11, 2016b.

BRITSKI, H. A.; BIRINDELLI, J. L. O.; GARAVELLO, J. C. A new species of *Leporinus* agassiz, 1829 from the upper Rio Paraná basin (Characiformes, Anostomidae) with redescription of *L. elongatus* Valenciennes, 1850 and *L. obtusidens* (Valenciennes, 1837). **Papeis Avulsos de Zoologia**, v. 52, n. 37, p. 441–475, 2012.

CABELLO, F. C. et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: Its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. **Environmental Microbiology**, v. 15, n. 7, p. 1917–1942, 2013.

CALAÇA, P. R. DE A. et al. *Enterococcus faecium* EF137V: uma nova fonte estratégica para o controle da saúde humana e animal contra espécie de *Campylobacter*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. 5–24, 2020.

CAMPELO, D. A. V. et al. Estratégias alimentares na larvicultura do peixe ornamental amazônico acará-severo (*Heros severus*) (Heckel, 1840). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 5, p. 1601–1608, 2019.

CAMPELO, D. A. V. et al. Utilização de diferentes alimentos na larvicultura do peixe

ornamental amazônico Acará Severo. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 14035–14049, 2020.

CARDOSO, G. L. S. **Boas práticas de manejo na produção, aplicadas à piscicultura**. Monografia—Mato Grosso: Universidade Federal de Mato Grosso, 2017.

CASTRO, V. S. DE et al. Probióticos do gênero *Bacillus* em dietas para pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e51810717032, 2021.

DA CONCEIÇÃO, L. E. C. et al. Avanços recentes em nutrição de larvas de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. SUPPL. 1, p. 26–35, 2009.

DE J.R. DE-PAULA, V.; FORLENZA, A. S.; FORLENZA, O. V. Relevance of gutmicrobiota in cognition, behaviour and Alzheimer's disease. **Pharmacological Research**, v. 136, p. 29–34, 2018.

DE MELLO, R. F. et al. Suplementação da dieta de alevinos de piaçu (*Leporinus obtusidens*) com vitamina C1. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1223–1231, 1999.

DE MORAES, T. C. H. et al. Routine exposure to biometric procedures in fish farming reveals differences in stress response in tambaqui and hybrid tambatinga. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 43, p. 1–10, 2017.

DIAS, J. A. R. et al. *Enterococcus faecium* as potential probiotic for ornamental neotropical cichlid fish, *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823). **Aquaculture International**, v. 27, n. 2, p. 463–474, 2019.

DIEMER, O. et al. *Artemia* sp. na alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciencia Animal Brasileira**, v. 13, n. 2, p. 175–179, 2012.

DING, Z. et al. Effect of feeding frequency on growth, body composition, antioxidant status and mRNA expression of immunodependent genes before or after ammonia-N stress in juvenile oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 68, p. 428–434, 2017.

DOAN, H. V. Hostassociated probiotics boosted mucosal and serum immunity, disease resistance and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 491, p. 94–100, 2018.

DOS SANTOS-JUNIOR, M. M. et al. Suplementação dietética com probiótico e butirato de

sódio no pré-berçário de *Litopenaeus vannamei*. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 42, n. 2, p. 457–463, 2016.

EIRAS, B. J. C. F. EFEITO DA SALINIDADE E DA FREQUÊNCIA ALIMENTAR DURANTE A LARVICULTURA DOS ORNAMENTAIS AMAZÔNICOS ACARÁ BANDEIRA *Pterophyllum scalare* (SCHULTZE, 1823) E ACARÁ SEVERO *Heros severus* (HECKEL, 1840). p. 78, 2016.

EL-JENI, R. Perfil probiótico in vitro de novos *Enterococcus faecium* e *Leuconostoc mesenteroides* de peixes de água doce da Tunísia. **Jornal canadense de microbiologia**, v. 62, n. 1, p. 60-71, 2016.

EL-SEBAIE, H. E. A. et al. Biological Performance of *Pterophyllum scalare* larvae Fed on Artemia and Artificial Diet. **World Journal of Fish and Marine Sciences**, v. 6, n. 3, p. 289–294, 2014.

FAO. The 2020 edition of The State of World Fisheries and Aquaculture. **Nature and Resources**, v. 35, n. 3, p. 4–13, 2020.

FARIA, A. C. E. A. DE; HAYASHI, C.; SOARES, C. M. Substituição parcial e total da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para alevinos de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 23, n. 0, p. 835, 2008.

FERREIRA, A. H. C. et al. Probiotic addition effect assessment in the diet of fingerling and juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) created in treated sewage. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 23, n. 4, p. 665–674, 2018.

FERREIRA, D.; BARCELLOS, L. J. G. Enfoque combinado entre as boas práticas de manejo e as medidas mitigadoras de estresse na piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 4, p. 601–611, 2008.

FERREIRA, D. R. **Efeito do uso de probiótico e diferentes enriquecedores na *Artemia* sp. no cultivo de juvenis de cavalo-marinho *Hippocampus reidi*** Florianópolis. Dissertação—Florianópolis: Centro de Ciências Agrárias, 2017.

FERREIRA, P. M. P. **Manual de cultivo e bioencapsulação da cadeia alimentar para**. [s.l.] INSTITUTO NACIONAL DE RECURSOS BIOLÓGICOS I.P., 2009.

FILHO, J. H. S. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PROBIÓTICO DE BACTÉRIAS**

ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS DE VIVEIROS DE PISCICULTURA. Dissertação—Piauí: Universidade Federal do Piauí, 2016.

FINKLER, J. K. et al. Substitution of fishmeal by poultry viscera meal in hybrid piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) x piapara (*Leporinus elongatus*) fingerlings feeding | Substituição da farinha de peixe por farinha de vísceras de aves na alimentação de alevinos híbridos de piav. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, n. 3, p. 237–243, 2010.

FLESCHE, A. G. T.; POZIOMYCK, A. K.; DAMIN, D. D. C. O uso terapêutico dos simbióticos. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, v. 27, n. 3, p. 206–209, 2014.

FORTUNATO, M. H. T.; MELO, C. L. DE; MENDES, H. F. Piscicultura Brasileira E a Influência Da Ordem Odonata, Uma Revisão. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 23, n. 1cont, p. 1–7, 2020.

FUJIMOTO, R. Y. et al. Seleção de Bactéria Autóctone com Potencial Probiótico para o Acará-Bandeira. **Embrapa - Tabuleiros Costeiros**, v. 1, n. 1, p. 17, 2017.

GARAVELLO, L. et al. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela proteína dos farelos de canola e algodão em dietas para alevinos de. p. 841–847, 2001.

GATESOUBE, F. J. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: Natural occurrence and probiotic treatments. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, v. 14, n. 1–3, p. 107–114, 2007.

GATLIN III, D. M. et al. Potential application of prebiotics in aquaculture. **VIII Simposium Internacional de Nutricion Acuicola**, p. 371–376, 2006.

GAZAL, L. E. DE S. et al. Antimicrobials and resistant bacteria in global fish farming and the possible risk for public health. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, p. 1–11, 2020.

GIAZZI, A. et al. Propriedade tecnológicas das bactérias ácido lácticas isoladas na região norte do Paraná. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 6, p. 5983–5992, 2020.

GODOY, B. R. DE. **Oportunidade e desafios para indústria de rações para piscicultura.** Dissertação—Tupã: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2019.

HAVENAAR, R. Probiotics : A General View. **Nutrition and Food Research**, v. 1, p. 151–170, 1992.

HERMES, L. B. et al. Taxa De Arraçoamento Para Jundiás Cultivados No Sistema De

Bioflocos / Feeding Rates for Silver Catfish Rearing in Biofloc System. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 16439–16451, 2021.

HONORATO, C. A. Medidas para ampliação à sanidade na Piscicultura – a importância da alimentação de qualidade. **Revista online de Exetensão e Cultura REALIZAÇÃO**, v. 6, n. 11, p. 34–43, 2019.

ISHIKAWA, M. M. et al. Uso de biomarcadores em peixe e boas práticas de manejo sanitário para a piscicultura. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA**, v. 1, p. 29, 2020.

JATOBÁ, A. et al. Utilização de bactérias ácido-láticas isoladas do trato intestinal de tilápia-do-nilo como probiótico. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1201–1207, 2008.

JATOBÁ, A. Viability of different feed rates for astyanax bimaculatus culture. **Revista de Ciencias Agroveterinarias**, v. 17, n. 3, p. 450–453, 2018.

JATOBÁ, A.; MOURIÑO, J. L. P. Lactobacillus plantarum effect on intestinal tract of Oreochromis niloticus fingerlings. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 16, n. 1, p. 45–53, 2015.

JESUS, G. F. A. **Riscos químicos associados à piscicultura**. Monografia—Santa Catarina: Universidade do Sul de Santa Catarina, 2017.

JOMORI, R. K. et al. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquaculture**, v. 221, n. 1–4, p. 277–287, 2003.

JOMORI, R. K. et al. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. **Aquaculture**, v. 243, n. 1–4, p. 175–183, 2005.

JUNIOR, M. S. S.; CALIARI, M.; PEREIRA, D. E. P. Efeito da inclusão de soja integral em rações extrusadas no desempenho de juvenis de piavuçu (*Leporinus macrocephalus* L.). **Ciencia Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 399–405, 2013.

KHALED, J. M. A. Probiotics, prebiotics, and COVID-19 infection: A review article. **Saudi Journal of Biological Sciences**, n. xxxx, 2020.

KUBITZA, F. Nutrição e saúde no cultivo de tilápias. **Panorama da Aquicultura**, v. 23, n. 137, p. 14–23, 2013.

KÜÇÜK, E. et al. Effect of feeding frequency on growth, feed efficiency and nutrient utilization

of juvenile flounder (*Platichthys flesus luscus*). **Aquaculture International**, v. 22, n. 2, p. 723–732, 2014.

LEIRA, M. H. et al. PRINCIPAIS INFECÇÕES BACTERIANAS NA CRIAÇÃO DE PEIXES DE ÁGUA DOCE DO BRASIL – UMA REVISÃO. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. vol.3, n. September, p. 044–059, 2016.

LIU, C. H. et al. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 3, p. 1031–1041, 2009.

LOBATO, S. I. R.; PEDREIRA, M. M.; SCHORER, M. Simbiótico, probiótico, antibiótico em dietas para juvenis de matrinxã. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 8, n. 1, p. 28–48, 2017.

LOPES, N. P. et al. Efeito do extrato pirolenhoso de *cinnamomum zeylanicum* e *mimosa caesalpiniiifolia* sobre o parasita *neoechinorhynchus buttnerae*. **Brazilian Journal of Development**, p. 20798–20808, 2020.

LUI, T. A. et al. Manejo alimentar para larvas de pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 13, p. 153–158, 2015.

MAO, Q. et al. (2020). A candidate probiotic strain of *Enterococcus faecium* from the intestine of the crucian carp *Carassius auratus*. **AMB Express**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2020.

MARTINS, M. L.; YOSHITOSHI, E. R. A new nematode species *Goezia leporini* n. sp. (Anisakidae) from cultured freshwater fish *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae) in Brazil. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 63, n. 3, p. 497–506, 2003.

MENESES, J. O. **Nanoterapia e fitoterapia no controle do fungo *Saprolegnia parasitica***. Aracaju: Universidade Tiradentes, 2017.

MINUCCI, L. V.; PINESE, J. F.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Análise Limnológica De Sistema Semi-Intensivo De Criação De *Leporinus Macrocephalus* (Pisces , Anostomidae). **Biosci. j. (Online)**, n. April, p. 123–131, 2005.

MORO, G. V. et al. Anatomia e fisiologia de peixes de água doce. técnicos. Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos. Brasília-DF: **Embrapa**, 71-95. 2013.

NASCIMENTO, R. V. DO; PINHEIRO, J. U.; SALMITO-VANDERLEY, C. S. B. ALIMENTAÇÃO DE PÓS-LARVAS DE TELEÓSTEOS E SUA IMPORTÂNCIA NA PRODUÇÃO EM CATIVEIRO. **Ciência Animal**, v. 31, n. 1, p. 80–91, 2021.

NAVARRO, R. D. et al. Níveis de energia digestível na dieta de piaçu (*Leporinus macrocephalus*) no desenvolvimento testicular em estágio pós-larval. **Zootecnia tropical**, v. 24, n. 2, p. 153–163, 2006.

NG, W. K. et al. Effects of feeding rate on growth, feed utilization and body composition of a tropical bagrid catfish. **Aquaculture International**, v. 8, n. 1, p. 19–29, 2000.

OBA, E. T.; MARIANO, W. DOS S.; SANTOS, L. R. B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. **Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo**, p. 226–247, 2009.

OH, S. Y.; MARAN, B. A. V. Feeding frequency influences growth, feed consumption and body composition of juvenile rock bream (*Oplegnathus fasciatus*). **Aquaculture International**, v. 23, n. 1, p. 175–184, 2014.

OKOMODA, V. T. et al. Effects of feeding frequency on fry and fingerlings of African catfish *Clarias gariepinus*. **Aquaculture**, v. 511, n. March, 2019.

OLIVEIRA PORTO, M. et al. FREQUÊNCIA ALIMENTAR PARA TAMBAQUIS *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818) CULTIVADOS EM UM CENTRO DE PESQUISA AMAZÔNICO. **Revista de Administração e Negócios da Amazônia**, v. 12, n. 1, p. 108, 2020.

PAIXÃO, P. E. G. et al. Avaliação não invasiva indireta para determinação da colonização probiótica intestinal em peixes. **Embrapa**, p. 27–31, 2018.

PAIXÃO, P. E. G. et al. In vitro selection of autochthonous lactic acid bacterium from clownfish *Amphiprion ocellaris*. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 2, p. 848–851, 2019.

PAULA, G. H. DE et al. Manejo alimentar de piaçu (*Leporinus macrocephalus*) na fase inicial de cultivo. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 53053–53065, 2020.

PAULINO, G. S. F. **Exigência de energia digestível para o crescimento inicial do tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Dissertação—Jaboticabal: Universidade do Estado de São Paulo, 2018.

PEIXEBR. Anuário 2020 Peixe BR da Piscicultura. **Peixe BR**, p. 1–136, 2020.

PEREIRA, S. L. et al. Diferentes estratégias alimentares na larvicultura do acará-bandeira (*Peterodophyllum scalare*, Cichlidae). Different feeding strategies on larval rearing of angelfish (*Peterodophyllum*). **Acta Amazonica**, v. 46, n. 1, p. 91–98, 2016.

PERINO, V. S.; KASHIWAQUI, L. A.; MARCUSSO, P. F. Uso de fitoterápicos na piscicultura. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 4, n. 0, p. 160, 2017.

PICAPEDRA, P. H. S.; SANCHES, P. V.; LANSAC-TÔHA, F. A. Effects of light-dark cycle on the spatial distribution and feeding activity of fish larvae of two co-occurring species (Pisces: Hypophthalmidae and sciaenidae) in a neotropical floodplain lake. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 4, p. 763–772, 2018.

PONTES, M. A. N. DE. **INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO ANTIBACTERIANA DO MONOTERPENO CITRAL FRENTE AS CEPAS DE *Klebsiella pneumoniae* PRODUTORAS DE ESBL**. Cuité: Centro de Educação e Saúde, 2017.

POSSER SIMEONI, C. et al. MICROENCAPSULAÇÃO DE PROBIÓTICOS: INOVAÇÃO TECNOLÓGICA NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS Microencapsulation of probiotics: technological innovation in the food industry. **Ed. Especial Mai**, p. 66–75, 2014.

PRICE, D. et al. Variation in the concentration of antibiotics in tissue during oral antibiotic treatments in farmed salmonids. **Aquaculture**, v. 498, n. September 2018, p. 587–593, 2019.

PROL, M. J. et al. Real-time PCR detection and quantification of fish probiotic *Phaeobacter* strain 27-4 and fish pathogenic *Vibrio* in microalgae, rotifer, *Artemia* and first feeding turbot (*Psetta maxima*) larvae. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 4, p. 1292–1303, 2009.

RAMOS, L. D. E. A. Manejo alimentar e desenvolvimento inicial de pós-larvas de peixes carnívoros nativos produzidos no mato grosso do sul l. p. 93, 2011.

REHAIEM, A. et al. Assessment of potential probiotic properties and multiple bacteriocin encoding-genes of the technological performing strain *Enterococcus faecium* MMRA. **Food Control**, v. 37, n. 1, p. 343–350, 2014.

REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E.; MUELBERT, B. Estádios do desenvolvimento embrionário do piavuçu *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 23, n. 0, p. 823, 2008.

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.

RIGOS, G.; TROISI, G. M. Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: A synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 15, n. 1–2, p. 53–73, 2005.

RINGØ, E. Probiotics in shellfish aquaculture. **Aquaculture and Fisheries**, n. December, p. 1–27, 2020.

RODRIGUES, S. S.; NAVARRO, R. D. Adaptações anatômicas da cavidade bucofaringiana de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Pisces, Characiformes, Anostomidae) em relação ao hábito alimentar. **Resumo**, v. 19, n. 1, p. 51–58, 2006.

SADO, R. Y. **Aspectos Sanitários em Piscicultura Intensiva: Qualidade da Água e Principais Enfermidades**. Dois Vizinhos: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2009. v. 1

SANTANA, H. P. et al. Influência de Metazoários Parasitas na Morte de Juvenis de *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) Criados em uma Piscicultura na Amazônia Brasileira. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 18, n. 2, p. 77–90, 2017.

SANTOS, H. D. A.; POMPEU, P. D. S.; MARTINEZ, C. B. Swimming performance of the migratory Neotropical fish *Leporinus reinhardti* (Characiformes: Anostomidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 2, p. 139–146, 2007.

SARTORI, A. G. DE O.; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 19, n. 2, p. 83–93, 2012.

SCHNAITTACHER, G.; KING V., W.; BERLINSKY, D. L. The effects of feeding frequency on growth of juvenile Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. **Aquaculture Research**, v. 36, n. 4, p. 370–377, 2005.

SEABRA, A. G. L. et al. Influência da frequência alimentar durante a alevinagem do pacamã (*Lophosilurus alexandri*). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 6789–6801, 2020.

SIGNOR, A. A. et al. Farinha de vísceras de aves na alimentação de alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). **Ciência Rural**, v. 37, p. 7, 2007.

SIGNOR, A. A. et al. Feed management of pacu juveniles cultivated in net cages. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 3, p. 1–8, 2018.

SILVA, A. P. DA; MENDES, P. D. P. Influência de duas dietas na qualidade da água dos tanques berçário, utilizados no cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 28, n. 1, p. 105–111, 2006.

SILVA, E. C. DA. **Efeito da Frequência Alimentar no Desempenho Zootécnico, Parâmetros Hematológicos, Composição Centesimal e Enzimas Digestivas de Juvenis de**

Tainha (Mugil liza). Dissertação—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2018.

SORGELOOS, P.; DHERT, P.; CANDREVA, P. Effects of Bioflocs on Artemia Growth and Water Quality. **Aquaculture**, v. 200, n. 1, p. 147–159, 2001.

SOUSA, N. D. C. et al. Enriched artemia nauplii with commercial probiotic in the larviculture of angelfish *Pterophyllum scalare* Lichtenstein (1823). **Journal of Fisheries Science**, v. 2, n. 1, p. 17–21, 2020.

SOUZA, J. C. N. DE et al. Avaliação in vitro de cepas de bactérias com potencial probiótico isoladas do trato intestinal de tambaquis. In: **Embrapa - Tabuleiros Costeiros**. Aracaju: [s.n.], p. 22–26.

ST-HILAIRE, S. et al. Evaluating the concentration of emamectin benzoate in Atlantic salmon tissues after sea lice treatments. **Aquaculture**, v. 498, p. 464–469, 2019.

TAVARES-DIAS, M. et al. Sanidade do Tambaqui. **Embrapa**, 2013.

TAVARES-DIAS, M. et al. Imunoestimulantes para melhoria no crescimento e sistema imunológico de alevinos de pirarucu. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA**, p. 6, 2019.

TAVARES, G. C.; PALHARES, M. M. Epidemiologia, diagnóstico e controle das principais bacterioses que afetam a tilapicultura no Brasil. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, v. 110, p. 40–60, 2011.

TORRES, D. .; MANCILHA, I. M. Avaliação Da Viabilidade De Microrganismos Probióticos Incorporados Em Ração De Truta-Arco-Íris (*Oncorhynchus mykiss*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 6, p. 2381–2386, 2020.

TOSONI, N. F. et al. Antimicrobial activity of enterocin obtained from *Enterococcus durans* on Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli*. **Ciencia Rural**, v. 49, n. 9, 2019.

VALENTI, W. C. et al. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, n. December 2020, p. 18, 2021.

VÁZQUEZ-SILVA, G. et al. Effect of bacterial probiotics bio-encapsulated into artemia franciscana on weight and length of the shortfin silverside (*Chirostoma humboldtianum*), and pcr-dgge characterization of its intestinal bacterial community. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 45, n. 5, p. 1031–1043, 2017.

VIEIRA, B. B.; PEREIRA, E. L. POTENCIAL DOS PROBIÓTICOS PARA O USO NA AQUICULTURA Potential probiotics for use in aquaculture. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 2, p. 1223–1241, 2016.

WU, Y. et al. Effect of probiotic *Lactobacillus* on lipid profile : A systematic review and meta-analysis of randomized , controlled trials. **PLoS ONE**, p. 1–15, 2017.

ZIAEI-NEJAD, S. et al. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. **Aquaculture**, v. 252, n. 2–4, p. 516–524, 2006.

CAPÍTULO II

DESEMPENHO DE CRESCIMENTO, MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E RESISTÊNCIA A PATÓGENO EM LARVAS DE *Megaleporinus macrocephalus* SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICO AUTÓCTONE EM DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ALIMENTAÇÃO

Victor Hugo Piedade Vieira^{1*}

¹Universidade Federal do Pará, Instituto de estudos costeiros, Faculdade de Engenharia de pesca. 68600-000, Bragança-PA

*autor correspondente: vhpiidade@gmail.com.

RESUMO

O estudo avaliou o efeito da suplementação dietética com artemia enriquecida com probiótico autóctone *Enterococcus faecium* sobre desempenho produtivo, modulação da microbiota, e resistência à bactéria patogênica das larvas de piaçu *Megaleporinus macrocephalus*. O experimento avaliou seis tratamentos, conduzido em delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3 x 2, composto por três frequências de alimentação (2x, 3x e 4x) e duas dietas (I sem probiótico) e (II com probiótico) em cinco repetições, fornecidos via náuplios de artêmia. As larvas (n= 300; peso = $5,2 \pm 2,6$ mg e comprimento = $3,69 \pm 0,4$ mm) foram distribuídas em 30 recipientes de 1 L na densidade de 10 larvas/L¹ durante 20 dias. Ao final do experimento, foram aferidos os índices de desempenho produtivo, sobrevivência e microbiologia. 120 espécimes foram submetidos ao desafio agudo contra *Aeromonas hydrophila*. Os resultados mostraram interação significativa ($p < 0,05$) com as maiores médias de ganho de comprimento ($14,42 \pm 0,45$ cm) e peso total ($0,06 \pm 0,02$ g) para a frequência de 4x.dia (dieta II) suplementadas com probiótico, maiores contagens de bactérias ácido láticas ($7,23 \pm 0,07$ log CFU.g⁻¹ - dieta II) e maior contagem de bactérias heterotróficas totais ($5,46 \pm 0,07$ CFU.g⁻¹ – dieta I) nos intestinos. As dietas contendo probióticos influenciaram a resistência dos animais na infecção aguda, com menor mortalidade acumulada no grupo 4x.dia – dieta II ($26,66 \pm 16,54\%$), e elevada no C+ ($100 \pm 14,35\%$). Assim, a suplementação probiótica com a bactéria autóctone *Enterococcus faecium* ($1,0 \times 10^8$ UFC.g⁻¹), na frequência de 4x.dia proporciona melhora zootécnica, modulação da microbiota e maior resistência à infecção patogênica.

Palavras chave: Desempenho produtivo, artemia, larvicultura, microbiologia, patógeno.

GROWTH PERFORMANCE, MODULATION OF INTESTINAL MICROBIOTA AND PATHOGEN RESISTANCE IN *Megaleporinus macrocephalus* LARVAE SUPPLEMENTED WITH AUTOCHTHONOUS PROBIOTIC AT DIFFERENT FEEDING FREQUENCIES.

ABSTRACT

The study evaluated the effect of dietary supplementation with brine shrimp enriched with the autochthonous probiotic *Enterococcus faecium* on productive performance, microbiota modulation, and resistance to the pathogenic bacteria of piaçu larvae *Megaleporinus macrocephalus*. The experiment evaluated six treatments, carried out in a completely randomized design in a 3 x 2 factorial scheme, consisting of three feeding frequencies (2x, 3x and 4x) and two diets (I without probiotic) and (II with probiotic) in five repetitions, provided via nauplii. of brine shrimp. The larvae (n= 300; weight = 5.2 ± 2.6 mg and length = 3.69 ± 0.4 mm) were distributed in 30 1 L recipients at a density of 10 larvae/L¹ for 20 days. At the end of the experiment, the indexes of productive performance, survival and microbiology were measured. 120 specimens were acutely challenged against *Aeromonas hydrophila*. The results

showed significant interaction ($p < 0.05$) with the highest means of length gain (14.42 ± 0.45 cm) and total weight (0.06 ± 0.02 g) for the frequency of 4x.day (diet II) supplemented with probiotic, higher counts of lactic acid bacteria (7.23 ± 0.07 log CFU.g⁻¹ - diet II) and higher counts of total heterotrophic bacteria (5.46 ± 0.07 CFU.g⁻¹ - diet I) in the intestines. Diets containing probiotics influenced the resistance of animals in acute infection, with lower accumulated mortality in the 4x.day - diet II group ($26.66 \pm 16.54\%$), and higher in C+ ($100 \pm 14.35\%$). Thus, probiotic supplementation with the autochthonous bacterium *Enterococcus faecium* (1.0×10^8 CFU.g⁻¹), at a frequency of 4x.day, provides zootechnical improvement, microbiota modulation and greater resistance to pathogenic infection.

Keywords: Desempenho produtivo, artemia, larvicultura, microbiologia, patógeno.

2 INTRODUÇÃO

A produção da aquicultura continua em crescimento, em especial para as espécies de peixes na modalidade de piscicultura, visando a oferta de pescado mais seguro para o consumidor (Fortunato; Melo; Mendes, 2020). Entretanto, a intensificação da indústria piscícola desencadeia a imunossupressão dos organismos e o consequente aumento na incidência de doenças gerando grandes perdas econômicas (Joffre et al., 2018; Ishikawa et al., 2020; Machado et al., 2022).

Nesse sentido, antibióticos e quimioterápicos têm sido utilizados como preventivos ou terapêuticos contra doenças a custos elevados. Seu uso inadequado leva a resultados deletérios como bactérias resistentes, riscos ambientais, bioacumulação nos tecidos e baixa na imunologia dos organismos cultivados (Magronem et al., 2016; Ghiasi et al., 2018; Banavreh et al., 2019). Assim, a inserção de nutracêuticos como probióticos vem se difundindo como uma alternativa ao uso dos quimioterápicos, sobretudo por atuar de forma eficiente no melhoramento imunológico das espécies de peixes (Rohani et al., 2022). Pesquisas recentes destacam que bactérias autóctones podem ser mais eficazes na adesão do epitélio intestinal em comparação com bactérias alóctones e, ainda, ter maior potencial de restringir patógenos na aquicultura (Yamashita et al., 2020; Yeganeh Rastekenari et al., 2021; Hossain et al., 2022).

Em vista disso, a inclusão de probióticos bioencapsulados via artemia e rotíferos, vem ganhando destaque pelos resultados promissores, nos primeiros estágios de vida dos peixes (Yun et al., 2013; Samat et al., 2021; Ghoname et al., 2020). Dessa maneira, os probióticos se mantêm viáveis até o intestino (Hai, 2015; Samat et al., 2020), no entanto, as larvas de peixes sofrem grandes alterações morfofisiológicas durante as primeiras fases da vida (Sánchez-Hernández et al., 2019). O intestino ainda não está completamente formado incluindo sua microbiota ainda não estabelecida (Stephens et al., 2016), responsável pelo auxílio na síntese de absorção de nutrientes, proteção e desenvolvimento do sistema imunológico do hospedeiro (Chung et al., 2012; Arrieta et al., 2014). Sobretudo, é considerado uma das fases mais críticas para o animal, estando ele suscetível a diversas doenças de forma mais rápida (Pereira et al., 2016). Sendo assim, é de fundamental relevância estabelecer técnicas para um manejo adequado na larvicultura, como frequência de alimentação ideais para cada fase de criação proporcionando, assim, índices zootécnicos ideais para espécie (Campelo et al., 2020).

Entre as espécies de grande importância para piscicultura nacional, o piaçu *Megeporinus macrocephalus* (Garavello & Britsky, 1988) vem se destacando com uma produção aproximada de 3 mil toneladas no ano de 2020 (IBGE, 2022). As espécies do gênero *Megaleporinus* apresentam-se em destaque, compreende uma gama de espécies com comprimentos de até 60cm, ótimo rendimento corpóreo e sabor atraentes para a sua criação (Negreiros; Neves; Tavares-Dias, 2021; Paula et al., 2020). Entretanto, são escassos os estudos

referentes ao pacote tecnológico da espécie como frequência de alimentação e inclusão de probióticos para o *M. macrocephalus*, em especial, nas primeiras fases de criação.

Dessa maneira, objetivou-se avaliar a frequência de alimentação enriquecida com probiótico autóctone *Enterococcus faecium* na artemia sobre os parâmetros zootécnicos, modulação intestinal e resistência ao patógeno *Aeromonas hydrophila* na larvicultura do piaçu *Megaleporinus macrocephalus*.

3 MATERIAL E METODOS

3.1 Obtenção e conservação das larvas

O estudo foi conduzido no laboratório de Carcinologia da Universidade Federal do Pará - Campus Bragança. O uso dos animais foi previamente aprovado pelo conselho de ética no uso de animais da UFPA, sob o protocolo CEUA nº 3991300420.

Foram utilizados (n= 300 larvas; 0,0053±0,0023 g) de *Megaleporinus macrocephalus*, de 5-6 dias após eclosão e consumo do saco vitelínico, advindos da piscicultura Estrela D'alva. As larvas foram mantidas em recipientes de 1 L de volume útil, distribuídas em 30 recipientes plásticos (polietileno) na densidade 10 larvas /L, em sistema estático com aeração constante. O fotoperíodo foi de 12 horas e trocas de água (20% ao final da última alimentação diária).

Preparo da artêmia e enriquecimento com probiótico

Os cistos de artêmia foram incubados diariamente em água salinizada com 30 g NaCl por litro, com temperatura de 28°C, durante 24 horas (Azevedo et al., 2016). Após a incubação, os cistos foram descartados e os náuplios foram amostrados para quantificação em placas de petri quadriculadas. Após o tempo de incubação, os náuplios de artêmia foram levados a um becker (50mL) onde receberam o probiótico *Enterococcus faecium* autóctone na concentração de (1.0×10^8 UFC/ml⁻¹), durante o período de 40 minutos para o efetivo enriquecimento antes de ministrar as alimentações (Vázquez-Silva et al., Sousa et al., 2020), na taxa de 100 náuplios de artêmia por larva (Abe et al., 2015).

Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3 x 2, composto por três frequências de alimentação (2x, 3x e 4x) e duas dietas (I sem probiótico) e (II com probiótico), os náuplios de artêmia foram ministrados em três períodos (2x por dia, 08:00 e 17:00 horas; 3x por dia, às 08:00, 12:00 e 17:00 horas e 4 x por dia, às 08:00, 11:00, 14:00 e 17:00 horas). A concentração de probiótico foi de (1.0×10^8 UFC/ml⁻¹) na artêmia, durante um período de 20 dias.

3.2 Desempenho produtivo

Ao final do período de experimento com as dietas, foi realizada a biometria para determinar os dados de comprimento total; comprimento padrão e peso das larvas, afim de avaliar os seguintes parâmetros de desempenho produtivo de Ganho de comprimento; Ganho de Peso; Taxa de crescimento específico (TCe); Fator de condição de Fulton (K) e Biomassa (g) (Le Cren, 1951), além da Uniformidade do lote (U) e taxa de sobrevivência (FURUYA et al., 1998). Adicional a isso, os parâmetros de qualidade da água foram monitorados durante todo período de experimento: oxigênio (mg/L), temperatura (°C), condutividade elétrica (µs/cm), pH e amônia total (mg/L), foram aferidos a cada 3 dias.

3.3 Infecção por *Aeromonas hydrophila*

Ao final dos 20 dias de suplementação com artêmia enriquecida com probiótico, as larvas seguraram para o desafio bacteriano com cepas do patógeno *Aeromonas hydrophila* (CPQBA22808 DRM), previamente isolados e identificados por MALDI - TOF. O delineamento experimental seguiu o mesmo das suplementações anteriores com 6 tratamentos e 3 repetições ($n = 5$ por repetição e um controle positivo) e um grupo sem suplementação com probiótico apenas com solução salina 0,65%, compondo o grupo controle negativo. Acondicionado em sistema estático com aeração constante. As cepas foram incubadas em estufa a 30° C por 24 horas, seguida de homogeneização em vortex e transferidas para tubos eppendorf de 1 mL na concentração de 1.0×10^8 UFC/mL (Zhang et al., 2015), na concentração letal de $1,0 \times 10^8$ CFU.g⁻¹ em todos os tratamentos com exceção do controle negativo. A duração do desafio foi de 96 horas com contagem de larvas mortas diariamente para cálculo de mortalidade acumulada.

Análises microbiológicas

No final do experimento, para determinar a quantidade de bactérias colonizadas no intestino, as larvas foram eutanasiadas por secção medular e foram coletadas amostras do trato intestinal (pool de três larvas) de cada tratamento. Cerca de 1 grama de intestino médio foi amostrado e homogeneizado em Solução salina estéril a 0,65%, diluída em série (1:10). Uma alíquota (100 µL) de cada diluição (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) foram inoculadas em placas de petri contendo Triptone Soy Agar (TSA - incubado a 30 °C por 24 horas) para obter contagens de bactérias heterotróficas totais e em MRS Agar (incubado a 30 °C por 48 horas para contagens de bactérias ácido lácticas segundo Mouriño et al. (2012). A identificação foi realizada usando espectrometria de massa MALDI-TOF. Peixes mortos (durante o tempo de prova) e os peixes sobreviventes ao final de 96 h foram anestesiados por imersão em benzocaína solução 20 mg/L (Pramod et al., 2010), eutanasiados por secção medular e submetidos a análises microbiológicas para determinar o postulado de Koch's (Evas, 1976).

4 ESTATISTICA

Os dados foram submetidos quanto aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Bartlett). As contagens microbiológicas foram convertidas em raízes quadradas, antes de serem submetidas aos testes estatísticos. Após os testes de premissas os dados foram submetidos a análise de variância e subsequente aos testes post hoc de Tukey para separação de médias ($P < 0,05$) (Zar, 2009). As contagens Microbiológico contagens com características não paramétrica passaram por transformação de log [$\log_{10}(x + 1)$]. Com relação à mortalidade, os resultados foram transformados em raiz de arco seno ($\sqrt{x/100}$). Todos os dados foram rodados com auxílio dos programas estatísticos Past.

5 RESULTADOS

A frequência de alimentação e as duas dietas (I e II) apresentam diferença estatística ($p > 0,05$) com interação entre os fatores para o tempo experimental (20 dias) (Tabela 1). Apesar do maior desempenho de crescimento e biomassa, o aumento da taxa de alimentação em 3 e 4 vezes ao dia da dieta II (com probiótico) promoveu redução da uniformidade de peso ($p < 0,05$).

Tabela 1: Média $\pm$ desvio padrão no desempenho de crescimento de larvas de *Megaleporinus macrocephalus* submetidas às diferentes frequências de alimentação em duas dietas.

Variáveis	Dietas		Frequências		p-valor		
		2x	3x	4x			
CF (mm)	I	12,16 $\pm$ 1,00 Bc	14,42 $\pm$ 0,25 Bb	16,12 $\pm$ 0,52 Ba	Dietas	Frequências	Interação
	II	13,93 $\pm$ 0,70 Ab	17,95 $\pm$ 0,32 Aa	18,05 $\pm$ 0,63 Aa			
PF (g)	I	0,03 $\pm$ 0,00 Bb	0,04 $\pm$ 0,00 Bb	0,06 $\pm$ 0,00 Ba	0,0001	0,0001	0,0001
	II	0,04 $\pm$ 0,00 Ab	0,09 $\pm$ 0,00 Aa	0,09 $\pm$ 0,02 Aa			
GC (mm)	I	8,45 $\pm$ 1,01 Bc	10,71 $\pm$ 0,25 Bb	12,46 $\pm$ 0,65 Ba	0,0001	0,0001	0,0098
	II	10,24 $\pm$ 0,70 Ab	14,27 $\pm$ 0,32 Aa	14,42 $\pm$ 0,45 Aa			
GP (g)	I	0,03 $\pm$ 0,01 Bb	0,04 $\pm$ 0,00 Bb	0,06 $\pm$ 0,02 Aa	0,0001	0,0001	0,0001
	II	0,04 $\pm$ 0,00 Bb	0,09 $\pm$ 0,02 Aa	0,09 $\pm$ 0,02 Aa			
TCE(c) (%)	I	5,93 $\pm$ 0,41 Bc	6,80 $\pm$ 0,08 Ba	7,36 $\pm$ 0,20 Ba	0,0001	0,0001	0,0001
	II	6,62 $\pm$ 0,25 Ab	7,90 $\pm$ 0,10 Aa	7,85 $\pm$ 0,12 Aa			
TCE(p) (%)	I	20,23 $\pm$ 0,56 Bc	21,57 $\pm$ 0,52 Bb	23,95 $\pm$ 0,22 Ba	0,0001	0,0001	0,0001
	II	21,78 $\pm$ 0,67 Ab	25,59 $\pm$ 0,68 Aa	25,77 $\pm$ 0,32 Aa			
U(c) (%)	I	80,81 $\pm$ 5,37 Ab	85,08 $\pm$ 15,58 Ba	99,90 $\pm$ 0,00 Aa	0,0500	0,0001	0,0161
	II	84,90 $\pm$ 0,00 Ab	99,90 $\pm$ 0,01 Aa	95,22 $\pm$ 6,43 Ab			
U(p) (%)	I	71,55 $\pm$ 8,75Aa	54,68 $\pm$ 12,22Bab	58,89 $\pm$ 8,07Ab	0,0344	0,0164	0,0401
	II	70,24 $\pm$ 12,31Aa	81,35 $\pm$ 7,64Aab	56,83 $\pm$ 8,78Ab			
B(g)	I	0,21 $\pm$ 0,03 Bb	0,32 $\pm$ 0,05 Bb	0,57 $\pm$ 0,08 Ba	0,0001	0,0001	0,0001
	II	0,30 $\pm$ 0,07 Bb	0,70 $\pm$ 0,09 Aa	0,70 $\pm$ 0,10 Aa			

Observação. CF = comprimento final, PF = peso final, GC = ganho de comprimento, GP = ganho de peso, TCE(c) = taxa de crescimento específica para comprimento, TCE(p) = taxa de crescimento específica para peso, U(c) = Uniformidade do lote para o comprimento, U(p) = Uniformidade do lote para o peso, B(g) = Biomassa. Dietas: I = dieta sem probiótico, II = dieta com probiótico. Letras diferentes nas colunas (maiúsculas) e linha (minúsculas) significa diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Para os resultados de sobrevivência, a frequência de alimentação e as duas dietas (I e II) não apresentam diferença estatística ($p > 0,05$), entretanto sem interação entre os fatores. Entre as dietas o melhor resultado foi observado para dieta II com sobrevivência de 78,02 $\pm$ 8,33 % e para as frequências os maiores médias foram para 3 e 4 vezes ao dia diferindo estatisticamente ($p > 0,05$) de 2 vezes (Tabela 1). Para o fator de condição relativo não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) estéticas entre as dietas e para as frequências de alimentação.

Tabela 2: Média $\pm$ desvio padrão no desempenho de crescimento de larvas de *Megaleporinus macrocephalus* submetidas às diferentes frequências de alimentação em duas dietas.

Variáveis	Dietas		Frequências		
	I	II	2x	3x	4x
S(%)	76,00 $\pm$ 8,79 a	78,02 $\pm$ 8,33 a	72,03 $\pm$ 8,37 b	78,00 $\pm$ 8,30 a	84,02 $\pm$ 5,50 a
kr	1,01 $\pm$ 0,04	1,00 $\pm$ 0,03	0,98 $\pm$ 0,01	1,00 $\pm$ 0,04	1,00 $\pm$ 0,03
p-valor	Dietas		Frequência		Interação
S(%)	0,7531		0,0004		0,3112
kr	0,8144		0,7201		0,8644

S(%) = Sobrevivência, Kr = Fator de condição relativo. Dietas: I = dieta sem probiótico, II = dieta com probiótico. Letras diferentes nas linhas significa diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

6 MICROBIOLOGIA

Tabela 4: Contagem de bactérias ácido láticas e heterotróficas totais intestinais das larvas de piauçu (*M. macrocephalus*) submetidas às diferentes frequências de alimentação em duas dietas.

		Dietas Frequências			p valor		
		2x	3x	4x	Dietas	frequências	interação
BAL (UFC.g ⁻¹)	I	2,00 $\pm$ 1,41 Bb	3,95 $\pm$ 0,04 Aa	4,12 $\pm$ 0,02 Ba 7,23 $\pm$ 0,07	0,0001	0,0003	0,0206
	II	3,46 $\pm$ 0,12 Ab	4,36 $\pm$ 0,08 Bb	Aa			
BHT (UFC.g ⁻¹)	I	3,36 $\pm$ 0,12 Ab	4,96 $\pm$ 0,03 Aa	5,46 $\pm$ 0,07 Aa	0,0001	0,0001	0,0003
	II	3,10 $\pm$ 0,17 Bb	4,11 $\pm$ 0,13 Ba	4,26 $\pm$ 0,08 Ba			

BAL = Bactérias ácido láticas, BHT = Bactérias heterotróficas totais. Dietas: I = dieta sem probiótico, II = dieta com probiótico. As contagens de bactérias láticas e heterotróficas estão em 10⁸ UFC.g⁻¹. Letras diferentes nas colunas (maiúsculas) e linha (minúsculas) significa diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados pós desafio sanitário com infecção aguda por *A. hydrophila*, evidenciou diferenças significativas ($p < 0,001$) entre o grupo controle positivo, que apresentou maior taxa de mortalidade ($100 \pm 14,35\%$) entre os tratamentos. Os grupos que receberam dietas suplementadas com *E. faecium*, apresentaram as menores taxas de mortalidade, em especial para o grupo que foi suplementado nas frequências de 3 e 4x.dia com probiótico ($33,33 \pm 15,76$ e $26,66 \pm 16,54\%$, respectivamente). As demais frequências da dieta I, suplementadas sem probiótico 2, 3 e 4x.dia ($93,33 \pm 14,14$, $66,66 \pm 8,66$ e $53,33 \pm 11,34$, respectivamente), apresentaram as maiores taxas de mortalidade registradas entre 48 e 72 horas de infecção. Para o grupo C- (sem a infecção de bactéria patogênica), observou-se 100% de sobrevivência (Figura 3).

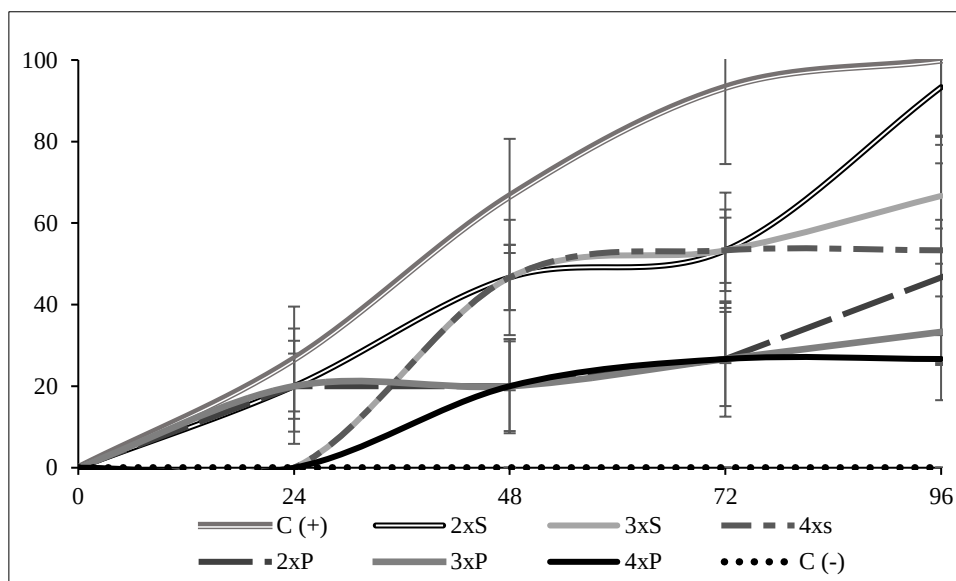


Figura 1. Mortalidade acumulada até 96 horas após a infecção por *A. hydrophila* em larvas de piaçu (*Megaleporinus macrocephalus*), após larvicultura de 20 dias submetidas a diferentes frequências de alimentação em duas dietas alimentadas com artemia enriquecidas com *E. faecium* autóctone. Dieta controle (C+) - sem probiótico, dietas sem probiótico (2xS, 3xS e 4xS) e dietas com probiótico (2xP, 3xP e 4xP) e controle negativo (C-) - com solução salina estéril (SSE; 0,65%).

Para o desafio bacteriano com o patógeno, o postulado de Koch foi confirmado pela presença de bactérias *A. hydrophila* nos intestinos dos animais desafiados com a bactéria e que morreram durante o período experimental. Após o desafio agudo, as cepas patogênicas foram resoladas dos peixes infectados e identificadas pela técnica MALDI-TOF.

7 DISCUSSÃO

Desempenho de crescimento de *M. macrocephalus* submetidas as frequências de 2, 3 e 4x.dia e duas dietas (I e II) apresentam diferença estatística ($p < 0,05$) como observado por Abe et al. (2022) na alevinagem do *Heros severus*, Seabra et al. (2020) na alevinagem de pacamã (*Lophiosilurus alex tanqueandri*). Frequência de alimentação inadequados fora dos limites ideais para cada fase de criação podem interferir na menor eficiência das enzimas digestivas causado pelo tempo de trânsito gastrointestinal do alimento (Booth, Tucker, Allan, & Fielder, 2008; Honorato et al., 2016; Navarro-Guillén, Engrola, & Vúfera, 2018; Riche, Haley, Oetker, Garbrecht e Garling, 2004). Nesse caso o presente estudo apresentou a melhor frequência de alimentação de 4x.dia – dieta (II) com a inclusão de probióticos na artemia para as larvas de *M. macrocephalus*.

A larvicultura é uma das fases mais críticas da criação de peixes, principalmente, por conta da alimentação, que é considerada um dos fatores mais importantes para o desempenho de crescimento e sobrevivência das larvas. Desta forma, a oferta de alimentos deficiente pode ocasionar altas mortalidades nas fases iniciais de vida, contudo, esse problema pode ser minimizado, quando o alimento apropriado é fornecido (Portella et al., 2012). Assim, para pós-larvas, alguns estudos relatam que é praticamente inviável ofertar alimento inerte como primeira fonte exógena (Portella et al., 2012; Pereira et al., 2016). Com isso, recomenda-se para alimentação inicial das pós-larvas a oferta de alimento vivo, seguido pelo processo de transição, até a substituição por completa para alimentação comercial (Pereira et al., 2016).

Aliado a isso a suplementação com probiótico via alimento vivo proporciona melhora no desempenho de crescimento, na conversão alimentar além de aumentar a higidez animal,

principalmente nas primeiras fases de vida (Le et al., 2017, Bhaheerathan et al., 2020, Samat et al., 2021). A utilização de probióticos via alimentos vivos, na primeira alimentação de larvas de peixes, vem ganhando cada vez mais interesse na aquicultura (Oliveira et al., 2020; Samat et al., 2021; Ghoname et al., 2020), entretanto para o *M. macrocephalus*, até o momento não se tem dados sobre a utilização de probióticos e sua relação à frequência de alimentar para as larvas.

A microbiota sofreu interação significativa ($p < 0,05$) das frequências de lamentação e das dietas (I e II), com maiores contagens de bactérias lácticas nas larvas suplementadas com probiótico na frequência de 4x ao dia. A modulação da microbiota intestinal influencia o desenvolvimento de crescimento (Sousa et al., 2020) e na imunologia das larvas que desempenha um papel crucial na saúde e crescimento dos peixes (Vadstein et al., 2013; Park et al., 2017; Munir et al., 2018). Estudos com suplementação dietética com *Lactobacillus* spp. autóctones na alimentação de pós larvas de *Astyanax bimaculatus* também observaram maior número de contagem de bactérias láctica ($\geq 1.0 \times 10^7$ CFU.g⁻¹) em relação as heterotróficas, nesse último caso, composto por *Vibrio* spp., *Pseudomonas* spp., e *Staphylococcus* spp. (Moraes et al., 2018). O presente estudo, a suplementação com probiótico autóctone foi capaz de modular a comunidade bacteriana no intestino dos peixes nas diferentes frequências de alimentação no primeiro ciclo de vida, e dessa maneira, influenciou na sobrevivência da pós larvas de piau.

Quanto a resistência frente a patógenos, esta é uma das propriedades mais importantes a ser avaliadas em suplementação probiótica. No presente estudo, O enriquecimento de artemia com probiótico autóctone *E. faecium* na dieta de *M. macrocephalus*, nas concentrações 10^8 UFC.g⁻¹ e frequência de 3 e 4x.dia após 20 dias de suplementação, foram capazes de diminuir a taxa de mortalidade acumulada durante a infecção aguda de 96h contra o patógeno *Aeromonas hydrophila*.

A maior taxa de sobrevivência foi para o tratamento 4x.dia na dieta II (73,34%). Esses resultados corroboram com os observados na suplementação de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis* sp.) com *Bacillus pocheonensis* administrado via *Moina micrura* em concentrações 10^4 e 10^6 UFC mL⁻¹, os autores observaram taxas de sobrevivência de 75 e 77%, respectivamente, após o desafio com *Streptococcus agalactiae* (Samat et al., 2021). Estudo com *E. faecium* autóctone foi observado aumento da resistência dos peixes e diminuição da mortalidade de 88,29% no grupo controle para 73,33% no grupo com probióticos em tilápias infectadas por *S. agalactiae* (Suphoronski et al., 2021).

As BAI's são capazes de ativar o sistema imune do hospedeiro em situações de estresse ou exposição a enfermidades agudas. Entres suas características, está na capacidade de adaptação ao trato gastrointestinal, o que permitem que elas disputem sítios de ligação específicos na camada intestinal e dominem a comunidade bacteriana em detrimento de bactérias nocivas (He et al., 2017; Li et al., 2018; Gupta et al., 2019). Essa capacidade de cepas probióticas na adesão por exclusão e expressiva redução de bactérias patogênicas tem sua característica do efeito probiótico no hospedeiro, esse mecanismo de exclusão desses microrganismos está ligado à produção de antimicrobianos e *quorum sensing* (Gatesoupe, 2008; Jatobá, Moraes, Rodrigues, Vieira, & Pereira, 2018; Chauhan et al., 2019). Assim, o uso de probiótico *E. faecium* no alimento vivo nas primeiras fases de vida de *M. macrocephalus* foi capaz de potencializar o ganho de peso e sobrevivência das pós-larvas. Ademais, modulam a microbiota e conferiram maior resistência à bactéria patogênica.

8 CONCLUSÃO

A bactéria autóctone *Enterococcus faecium* suplementada em diferentes frequências de alimentação na dieta de *Megaleporinus macrocephalus* via enriquecimento de artemia, na concentração de 1.0×10^8 UFC.g⁻¹, promoveu maior desempenho de crescimento das larvas,

modulou a comunidade microbiana e conferiu maior resistência ao patógeno *Aeromonas hydrophila*.

REFERÊNCIAS

- Abe, H. A., Sousa, N. D. C., do Couto, M. V. S., Paixão, P. E. G., Filho, R. M. N., Reis, R. G. A., ... & Fujimoto, R. Y. (2022). Growth performance and hematological parameters of banded cichlid *Heros severus* fed at different feeding rates and feeding frequencies. *Journal of Applied Ichthyology*, 38(1), 93-100.
- Booth, M. A., Tucker, B. J., Allan, G. L., & Fielder, D. S. (2008). Effect of feeding regime and fish size on weight gain, feed intake and gastric evacuation in juvenile Australian snapper *Pagrus auratus*. *Aquaculture*, 282(1–4), 104–110.
- Chauhan, A.; Singh, R. Probiotics in aquaculture: A promising emerging alternative approach. *Symbiosis* 2019, 77, 99–113.
- Gatesoupe, F. J. 2008. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 14, 107-114. <https://doi.org/10.1159/000106089>
- Ghoname, R. M., El-sayed, H. S., Ghozlan, H. A., Sabry, S. A. (2020). Application of probiotic bacteria for the improvement of sea bream (*Sparus aurata*) larval production. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*. Vol. 24(1): 371 – 398.
- Gupta, S; A. Feckaninová, J. Lokesh, J. Košcová, M. Sørensen, J. Fernandes, V. Kiron *Lactobacillus* Dominate in the Intestine of Atlantic Salmon Fed Dietary Probiotics *Front. Microbiol.*, 9 (2019), p. 3247, 10.3389/fmicb.2018.03247
- He, S., Ran, C., Qin, C., Li, S., Zhang, H., de Vos, W. M., Zhou, Z. (2017). Anti-infective effect of adhesive probiotic *Lactobacillus* in fish is correlated with their spatial distribution in the intestinal tissue. *Scientific Reports*, 7, 13195. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13466-1>
- Jatobá, A., Moraes, K. N., Rodrigues, E. F., Vieira, L. M., Pereira, M. O. 2018. Frequency in the supply of *Lactobacillus* influence its probiotic effect for yellow tail lambari. *Ciênc. Rural* 48. 1-7. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180042>
- Moraes, A. V., Pereira, M., de Moraes, K. N., Rodrigues-Soares, J. P., Jesus, G. F. A., & Jatobá, A. (2018). Autochthonous probiotic as growth promoter and immunomodulator for *Astyanax bimaculatus* cultured in water recirculation system. *Aquaculture Research*, 49(8), 2808–2814. <https://doi.org/10.1111/are.13743>
- Munir, MB, Marsh, TL, Bland, A., Hashim, R., Janti Anak Joshua, W., & Mohd Nor, SA (2018). Analisando o efeito de prebióticos e probióticos dietéticos na riqueza e diversidade de bactérias intestinais de alevinos de cabeça de cobra asiática usando o método T-RFLP. *Aquaculture Research* , 49 (10), 3350-3361.
- Navarro-Guillén, C., Engrola, S., & Yúfera, M. (2018). Daily dynamic of digestive processes in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae and post-larvae. *Aquaculture*, 493, 100–106.

Oliveira, F., Rodrigo Yutaka Dichoff Kasai, Carlos Eurico Fernandes, Wesley Souza & Cristiane Meldau de Campos (2020): Probiotic, prebiotic and synbiotics supplementation on growth performance and intestinal histomorphometry *Pseudoplatystoma reticulatum* larvae, Journal of Applied Aquaculture, DOI: 10.1080/10454438.2020.1841060

Paixão, P. E. G., do Couto, M. V. S., da Costa Sousa, N., Abe, H. A., Reis, R. G. A., Dias, J. A. R., Meneses, J. O., Cunha, F. S., Santos, T. B. R., da Silva, I. C. A., Medeiros, E. D. S., & Fujimoto, R. Y. (2020). Autochthonous bacterium *Lactobacillus plantarum* as probiotic supplementation for productive performance and sanitary improvements on clownfish *Amphiprion ocellaris*. Aquaculture, 526, 735395. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735395>

Park, Y., Lee, S., Hong, J., Kim, D., Moniruzzaman, M., & Bai, S.C. (2017). Use of probiotics to enhance growth, stimulate immunity and confer disease resistance to *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research. 48, 2672-2682. <https://doi.org/10.1111/are.13099>

PEREIRA, S.L.; GONÇALVES-JÚNIOR, L.P.; AZEVEDO, R. Diferentes estratégias alimentares na larvicultura do acará-bandeira (*Peterodophyllum scalare*, Cichlidae). Acta Amazonica, v.46, n.1, p.91-98, 2016.

Portella, M., Leitão, N., Takata, R., & Lopes, T. (2012). Alimentação e Nutrição de Larvas. In D. Fracalossi, & J. Cyrino (Eds.), Alimentação e Nutrição de Larvas. Florianópolis: Copiart Ltda.

Riche, M., Haley, D. I., Oetker, M., Garbrecht, S., & Garling, D. L. (2004). Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture, 234(1-4), 657-673

Samat, NA; Yusoff, FM; Rasdi, NW; Karim, M. A eficácia de *Moina micrura* enriquecida com probiótico *Bacillus pocheonensis* no aumento da sobrevivência e resistência a doenças de larvas de tilápia híbrida vermelha (*Oreochromis* spp.). Antibióticos 2021, 10, 989. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080989>

Seabra, A. G. L., Colpini, L. M. S., Pereira, L. G. R., Balen, R. E., da Silva Dias, P., & Meurer, F. (2020). Influência da frequência alimentar durante a alevinagem do pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). Brazilian Journal of Development, 6(2), 6789-6801.

Sousa, NC., do Couto, MVS, Paixão, PEG, dos Santos Medeiros, E., de Souza, JCN, Barros, FAL, & Cordeiro, CAM (2020). Náuplios de *Artemia* Enriquecidos com Probiótico Comercial na Larvicultura de Peixe-anjo *Pterophyllum scalare* Lichtenstein (1823). Revista de Ciências da Pesca| Volume, 2 (01).

Sousa, N. C., Couto, M. V. S., Abe, H. A., Paixão, P. E. G., Cordeiro, C. A. M., Monteiro Lopes, E., Ready, J. R., Jesus, G. F. A., Martins, M. L., Mouriño, J. L. P., Carneiro, P. C. F. Maria, A. N., & Fujimoto, R. Y. (2019). Effects of an *Enterococcus faecium* based probiotic on growth performance and health of Pirarucu, *Arapaima gigas*. Aquaculture Research, 50, 3720-3728. Doi: 10.1111/are.14332

Suphoronski, S. A., de Souza, F. P., Chideroli, R. T., Mantovani Favero, L., Ferrari, N. A., Ziemniczak, H. M., Gonçalves, D. D., Lopera Barrero, N. M., & Pereira, U. P. (2021). Effect

of *Enterococcus faecium* as a Water and/or Feed Additive on the Gut Microbiota, Hematologic and Immunological Parameters, and Resistance Against *Francisellosis* and *Streptococcosis* in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Frontiers in microbiology*, 12, 743957. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.743957>

CONCLUSÕES DO TRABALHO

As dietas empregadas com frequência de 3X e 4X ao dia com inserção de probiótico foram as que apresentaram maiores resultados (e semelhantes) no que diz respeito aos índices zootécnicos (comprimento total, ganho de peso e etc.), sendo 3 vezes ao dia a ideal para a espécie, sobretudo visando menos custos nas produções como com 4 vezes. Dessa forma, obtém-se maiores ganhos no crescimento e desempenho animal no período inicial de vida (fase larval), visando a resistência destes a patógenos comuns em ambiente de sistemas de confinamento.

ANEXO

Instruções aos autores

Política Editorial

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* (*Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science*), ISSN 1678-4162 (*on-line*), é editado pela FEPE Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os textos que necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os artigos aceitos para publicação tornam-se propriedade do *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* (ABMVZ), citado como *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e pelas informações contidos nos artigos. Originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ são imprescindíveis para publicação.

O ABMVZ aceita submissão de artigos registrados em servidores *preprints*.

Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciada. Não é autorizado o uso comercial de resultados de artigos publicados no ABMVZ.

A submissão e a tramitação dos artigos são realizadas exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <<http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no endereço www.scielo.br/abmvz.

ORIENTAÇÕES GERAIS

- O ABMVZ recebe submissões de artigos somente redigidos na língua inglesa.
- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de Publicação *on-line* do SciELO – ScholarOne, no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>, sendo necessário o cadastramento dos autores no referido sistema.
- Toda a comunicação entre os envolvidos nos processos de avaliação e de publicação (autores, revisores e editores) será feita apenas de forma eletrônica, e o autor responsável pelo artigo será automaticamente informado, por *e-mail*, sobre qualquer mudança de *status* do artigo.
- **Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridos no texto** e, quando solicitados pela equipe de editoração, também devem ser enviados, em separado, em arquivo com extensão JPG, em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido em “Figure or Image” (Step 2).
- É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento da inclusão de seu nome no texto submetido e concorde com tal inserção.
- O ABMVZ comunicará automaticamente a cada um dos autores inscritos, via sistema eletrônico, a participação no artigo. Caso um dos autores inscritos não concorde, por escrito, em participar como autor, o artigo será considerado como “Desistência” de um dos autores e sua tramitação será encerrada. Casos omissos serão analisados pelo editor-chefe para deliberação.
- O período para adequação às normas do ABMVZ é de 30 dias; após esse prazo, o artigo será considerado como “Desistência do autor”.
- O ABMVZ estimula que os autores façam, em repositório *preprints*, o depósito e o compartilhamento de dados de pesquisa que sustentam a publicação do artigo. Os dados de pesquisa referem-se a toda e qualquer observação, notas de experimentações, relatórios e outros produtos que possibilitam gerar os resultados da pesquisa. Um exemplo de repositório é o SciELO Data.
- O autor responsável pela submissão de um artigo necessita informar sobre o depósito em um servidor de *preprints* e,

obrigatoriamente, encaminhar o DOI correspondente para o ABMVZ. O manuscrito deve informar a licença que autorize compartilhar o material em qualquer suporte ou formato (Creative Commons – CC-BY). SciELO *Preprint* e Emerging Researcher Information são exemplos de servidores nacionais, e MedRxiv de servidor internacional.

- É de responsabilidade do autor de artigo aceito para publicação informar ao servidor *preprints* seu link da publicação do ABMVZ.
- Pareceres de avaliadores poderão ser, eventualmente, publicados, se houver interesse do Conselho Editorial do ABMVZ, sempre com anuência dos autores e dos pareceristas.

Tipos de artigos aceitos para submissão

Tipo	Seções	Sugestão de número de referências	Sugestão de número de autores	Sugestão de número de páginas
Artigo científico/				
Original Article	Title (português e inglês), Authors and Affiliation (somente na “Title Page”), Resumo, Abstract, Highlights (optional), Introduction, Material and Methods, Results, Discussion (ou Results and Discussion), Conclusions, Acknowledgements (quando houver) e References .	É recomendado que o número de referências não exceda a 20.	É recomendado que o número de autores não exceda a 10.	É recomendado que o número de páginas não exceda a 30, incluindo o tabelas e figuras.
Preprint	Title (português e inglês), Authors and Affiliation (somente na “Title Page”), Resumo, Abstract, Highlights (optional), Introduction, Material and Methods, Results, Discussion (ou Results and Discussion),	É recomendado que o número de referências não	É recomendado que o número de autores não	É recomendado que o número de páginas não

servidores <i>prints</i> .	Conclusions, Acknowledgements (quando houver) e References .	exceda a 20.	exceda a 10.	exceda a 30, incluindo o tabelas e figuras.
----------------------------	--	--------------	--------------	---

Relato de caso/

Case Report

Contempla principalmente as áreas médicas em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou em que a ocorrência dos resultados não é planejada.

Title (português e inglês), **Authors and Affiliation** (somente na “Title Page”), **Resumo, Abstract, Highlights (optional), Introduction, Casuistry, Discussion e Conclusions** (quando pertinentes), **Acknowledgements** (quando houver) e **References**.

É recomendado que o número de referências não exceda a 12.

É recomendado que o número de autores não exceda a 5.

É recomendado que o número de páginas não exceda a 10, incluindo o tabelas e figuras.

Comunicação/

Short Communication

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental digno de publicação, embora insuficiente ou inconsistente para constituir um

Title (português e inglês), **Authors and Affiliation** (somente na “Title Page”), **Highlights (optional), Resumo** (em português). Deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo aquela ordem.

É recomendado que o número de referências não exceda a 12.

É recomendado que o número de autores não exceda a 10.

É recomendado que o número de páginas não exceda a 10, incluindo o tabelas e figuras.

artigo
científico.

DETALHAMENTO DE CADA SEÇÃO

- **Title.** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.
- **Authors and Affiliation (Apenas na Title Page).** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com o número do ORCID (de todos os autores) e com identificação da instituição à qual pertencem. O autor e o seu *e-mail* para correspondência devem ser indicados com asterisco.
- **Highlights (optional).** Recomenda-se que o autor faça uma breve síntese dos pontos principais de seu trabalho, em no máximo cinco linhas.
- **Abstract (in English and Portuguese).** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro, contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os objetivos, os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso, e as conclusões. Cada frase deve conter uma informação completa.
- **Keywords (in English and Portuguese).** Deve conter, no máximo, cinco e no mínimo duas*.
* Na submissão, usar somente *Keywords* (Step 3) e, no corpo do artigo, constar tanto *keywords* (inglês) quanto palavra-chave (português).
- **Introduction.** Explicação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho, realçando-se com clareza a originalidade ou o ineditismo. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.
- **Material and Methods.** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados, **deverá constar, obrigatoriamente, o número do Certificado de Aprovação da CEUA** (verificar o Item Comitê de Ética). Nos trabalhos que envolvem seres humanos, **deverá constar, obrigatoriamente, o número do Certificado de Aprovação da Comissão de Ética** que analisou o projeto.
- **Casuietry.** Descrever detalhadamente o conjunto de achados que constitui e justifica a originalidade da casuística.
- **Results.** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.
 - *Tabela.* Tabelas só serão aceitas se apresentadas em formato de retrato/*portrait*, em um conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.).

No texto, a tabela deve ser referida como Tab., seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando se referir a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e em fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda de tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento, mas deve ser completa o suficiente para ser entendida independentemente do texto principal. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto, de preferência após a sua primeira citação.

- **Figura.** Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig., seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridos no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto, de preferência após a sua primeira citação.
- **Nota:** Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data), e a correspondente referência deve figurar nas Referências.
- **Discussion.** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).
- **Conclusions.** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e ser apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.
- **Acknowledgements.** Não são obrigatórios. Devem ser concisamente expressados.
- **References.** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ, conforme exemplos a seguir.

COMISSÃO DE ÉTICA

É indispensável anexar cópia, em arquivo PDF, do Certificado de Aprovação do Projeto da Pesquisa que originou o artigo, expedido

pela Comissão de Ética da instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. O documento deve ser anexado em “Ethics Committee” (Step 2). O número do Certificado de Aprovação do Projeto deve ser mencionado no corpo do artigo e, preferencialmente, na seção Material e Métodos. Nos trabalhos que envolvem seres humanos, **deverá constar, obrigatoriamente, o número do Certificado de Aprovação da Comissão de Ética** que analisou o projeto.

FORMATAÇÃO - Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em inglês na forma impessoal.

- O texto **NÃO** deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo e deve ser apresentado em arquivo *Microsoft Word* e anexado como “Main Document” (Step 2), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte *Times New Roman* tamanho 12, parágrafo justificado e com espaçamento 1 entrelinhas, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências).
- Não deve ser usado rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parênteses, no corpo do texto, na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

COMO REFERENCIAR

1. Citações no texto

- A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação, para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:
 - autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88);
 - dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);
 - mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979);
 - mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.
- *Citação de citação.* Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais, pode-se reproduzir a informação citada anteriormente por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por**, o sobrenome do autor e o ano do documento consultado. Nas Referências, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

- *Comunicação pessoal*. Não faz parte das Referências. Na citação, coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação e o nome da instituição à qual o autor é vinculado.

1. **Periódicos** (Até quatro autores, citar todos. Acima de quatro autores, citar três autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. *et al.* Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

1. **Publicação avulsa** (Até quatro autores, citar todos. Acima de quatro autores, citar três autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

1. **Documentos eletrônicos** (Até quatro autores, citar todos. Acima de quatro autores, citar três autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <http://www.org/critca16.htm>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>. Acessado em: 5 dez. 1994.

1. **Documentos preprints**

OLIVEIRA, D.C; AGUIAR, A.F. (2021). Aspectos biológicos. PsyArXiv. <https://psyarxivcom/kzy7u/>.

TAXAS DE SUBMISSÃO E DE PUBLICAÇÃO

Somente para ARTIGOS NACIONAIS (Autores brasileiros)

- **Taxa de submissão:** A taxa de submissão de R\$60,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico do Conveniar <http://conveniar.fepmvz.com.br/eventos/#servicos> (necessário preencher cadastro). Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias, será considerado como desistência do autor.

- **Taxa de publicação:** A taxa de publicação de R\$150,00, por página, deverá ser paga na ocasião da prova final do artigo, por meio de boleto bancário, cujos dados serão fornecidos na aprovação do artigo.

OBS.: Quando os dados para a nota fiscal forem diferentes dos dados do autor de contato, deve ser enviado um e-mail para abmvz.artigo@abmvz.org.br comunicando tal necessidade.

Somente para ARTIGOS INTERNACIONAIS

- **Submission and Publication fee.** The publication fee is US\$ 50.00 (fifty American dollar per page, plus US\$50.00 (fifty American dollar) for manuscript submission and will be billed to the corresponding author at the final proof of the article. The publication fee must be paid through a bank slip issued by the electronic article submission system. When requesting the bank slip the author must inform the date to be in the invoice issuance.