

**ALEXANDRE DUARTE RODRIGUES DA SILVA**

**APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS EM DIETAS PARA JUVENIS DE  
BEIJUPIRÁ CULTIVADOS EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO**

**RECIFE,  
2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA**

**APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS, EM DIETAS PARA JUVENIS DE  
BEIJUPIRÁ CULTIVADOS EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO**

**Alexandre Duarte Rodrigues da Silva**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Doutor.

**Profa Dra EMIKO SHINOZAKI MENDES**  
Orientadora

**Recife,**  
**Agosto/2014**

Ficha catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

Silva, Alexandre Duarte Rodrigues da  
Aplicação de bactérias probióticas, em dietas para  
juvenis de beijupirá cultivados em sistema de  
recirculação / Alexandre Duarte Rodrigues da Silva. –  
Recife, 2014. 69 f: il

Orientadora: Emiko Shinozaki Mendes  
Tese (Doutorado em Recursos Pesqueiros e  
Aquicultura). Departamento de Pesca e Aquicultura.  
Inclui bibliografia

CDD [Nº]

1. *Rachycentron canadum*

2. Probiótico

I. Emiko Shinozaki Mendes

II. Título aplicação de bactérias probióticas, em dietas  
para juvenis de beijupirá cultivados em  
sistema de recirculação

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA**

**Alexandre Duarte Rodrigues da Silva**

Tese julgada adequada para obtenção do título de doutor em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, em 29/08/2014 pela seguinte Banca Examinadora.

---

**Profa. Dra. EMIKO SHINOZAKI MENDES**

(Orientadora)

Departamento de Medicina Veterinária  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

**Prof. Dr. PAULO DE PAULA MENDES – Membro interno**

Departamento de Pesca e Aquicultura  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

**Prof. Dr. ALBERTO JORGE PINTO NUNES – Membro externo**

Departamento de Ciências do Mar  
Universidade Federal do Ceará

---

**Prof. Dr. FERNANDO DE FIGUEIREDO PORTO NETO – Membro externo**

Departamento de Zootecnia  
Universidade Federal do Rural de Pernambuco

---

---

**Prof. Dr. FERNANDO LEANDRO DOS SANTOS – Membro externo**

Departamento de Medicina Veterinária  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

## **Dedicatória**

*“Por que Eu bem sei os pensamentos que tenho a vosso respeito, diz o Senhor; pensamentos de paz, e não de mal, para vos dar o fim que esperais. Então me invocareis, e ireis, e orareis a mim, e eu vos ouvirei. E buscar-me-eis, e me achareis, quando me buscardes com todo o vosso coração.”*  
*Jr 29:11-13.*

*Dedico este trabalho ao meu filho Guilherme, motivo e razão da minha vida, pelo qual me esforço e luto por dias melhores.*

## **Agradecimentos**

A Deus, Pai Todo Poderoso, pela minha vida e oportunidades vividas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura e a Estação de Aquicultura Continental Professor Johei Koike, em nome de todos os professores e funcionários, por toda a infra-estrutura disponibilizada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado e financiamento do projeto “Probio-Cobia”.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes (orientadora) e ao Prof Dr. Paulo de Paula Mendes, pela amizade e disponibilidade de estender a mão, sempre que precisei.

Aos colegas do Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos (LASAq), pela ajuda no desenrolar do cultivo e das análises e a quem contei e muitas vezes exigi não como alunos ou colegas e sim como profissionais que são ou serão.

Aos Professores Fernando Leandro e Suely Santos, por toda a ajuda e profissionalismo, sem os quais, teria sido muito mais difícil.

Aos Engenheiros de Pesca Suzyanny Cabral, Fabiana Penalva, João Laurindo e Dijaci Ferreira e a Bióloga Hozana Dantas, pelo profissionalismo e ajuda que dedicaram ao meu experimento.

Aos meus pais, Arnaldo e Ademilda, pelo amor e carinho incondicional, que foram fundamentais na minha formação moral. Bem como aos meus irmãos e sobrinhos, motivos de grande alegria.

A Liliane Maciel, minha esposa, por todo o carinho e companheirismo, na qual encontrei apoio em momentos decisivos.

A Ana Acacia, *in memoriam*, pelo incentivo de retomar a vida acadêmica e pelo apoio incondicional no novo rumo.

Enfim, a todos que de alguma forma me deram forças e ânimo para iniciar, manter e finalizar mais essa etapa da minha vida.

## Resumo

O beijupirá *Rachycentron canadum* é um candidato recente da aquicultura brasileira e, portanto, ainda possui significativas limitações na produção. Em cultivo, a espécie enfrenta ameaças de diversas etiologias, sendo os principais patógenos, as bactérias. Esses patógenos podem interferir na integridade do epitélio intestinal prejudicando a absorção de nutrientes e reduzindo seu desempenho. Apesar de não haver evidências demonstrando que probióticos isolados do próprio hospedeiro melhoram desempenho, quando comparados com os probióticos isolados de espécies ou ambientes diferentes, supõem-se que os riscos ambientais e para a própria espécie, são consideravelmente menores. Assim sendo, objetivou-se cultivar experimentalmente juvenis do beijupirá com fornecimento de rações incorporadas de bactérias, isoladas do intestino de beijupirá cultivados, com características probióticas, com a finalidade de proporcionar condições para a obtenção de animais com bom desempenho zootécnico em peso e comprimento, baixo fator de conversão alimentar e alta sobrevivência. Foram adicionados isoladamente *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans* e *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, à ração comercial, fornecidos duas vezes ao dia. Os probióticos testados, não interferiram nos parâmetros avaliados ( $P \geq 0,05$ ), em todos os tratamentos, sem o desafio patogênico. Entretanto, quando os animais foram desafiados com o *Vibrio parahaemolyticus*, houve influência ( $P < 0,05$ ) na sobrevivência, crescimento, fator de conversão alimentar e parâmetros hematológicos, havendo indicativos de que a utilização de misturas das bactérias poderia melhorar o desempenho dos beijupirás. Conclui-se que as bactérias com potencial probiótico isoladas do intestino do beijupirá, quando utilizadas isoladamente, não tem influência sobre o crescimento, em peso e comprimento, bem como no fator de condição, fator de conversão alimentar e sobrevivência, sem que aja desafio bacteriano, porém, tem influência direta, nestes parâmetros, quando submetidos à ação do *V. parahaemolyticus*, para peixes entre 45 e 100 g, cultivados em sistema de recirculação.

**Palavras-chave:** *Rachycentron canadum*. Probiótico. Crescimento. Hematologia. Recirculação.

## Abstract

The Cobia *Rachycentron canadum* is a new candidate of the Brazilian aquaculture and therefore still has significant limitations in production. In cultivation, the species faces threats of various etiologies, the main pathogens, bacteria. These pathogens may interfere with the integrity of the intestinal epithelium impairing nutrient absorption, and reducing their performance. Although there is no evidence showing that probiotics isolated from the host itself improve performance when compared with probiotics isolated species or different environments, each procedure assumes that the environmental risks and the species itself, are considerably smaller. Therefore, it was aimed to cultivate the youth experimentally cobia incorporated with supply rations of bacteria, isolated from the gut of cobia with probiotic characteristics, in order to provide conditions for obtaining animals with good growth performance in weight and length, low feed conversion and high survival factor. Were added separately *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans* and *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, commercial feed, fed twice a day. Probiotics tested, did not affect the parameters evaluated ( $P \geq 0,05$ ) in all treatments without the pathogenic challenge. However, when the animals were challenged with *Vibrio parahaemolyticus*, have influence ( $P < 0.05$ ) in the survival, growth, feed conversion factor and hematological parameters. Thus, there are indications that the use of mixtures of bacteria may improve the performance of cobia. We conclude that bacteria with potential probiotic isolated from the intestine of cobia, when used alone, has no influence on growth in weight and length as well as the condition factor, food conversion and survival without acting bacterial challenge, however, has a direct influence on these parameters, when subjected to the action of *V. parahaemolyticus* to fish between 45 and 100 g, grown in recirculating system.

Keywords: *Rachycentron canadum*. Probiotic. Growth. Hematology. Recirculation.

## Lista de tabelas

Página

### ARTIGO CIENTÍFICO I

Tabela 1- Relação do peso e comprimento do <i>Rachycentron canadum</i> , quando submetido à aplicação de bactérias probióticas	41
Tabela 2: Relação do comprimento do <i>Rachycentron canadum</i> em função do tempo de cultivo, quando submetido à aplicação de bactérias probióticas.	42
Tabela 3: Relação do peso do <i>Rachycentron canadum</i> em função do tempo de cultivo, quando submetido à aplicação de bactérias probióticas.	42
Tabela 4: Parâmetros zootécnicos do <i>Rachycentron canadum</i> , quando cultivado durante 30 dias, e submetido à aplicação de bactérias probióticas	45

### ARTIGO CIENTÍFICO II

Tabela 1: Esquema dos tratamentos utilizados no cultivo experimental, de juvenis de beijupirá, alimentados com ração contendo probiótico e desafiados com <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	58
Tabela 2: Parâmetros zootécnicos do <i>R. canadum</i> , quando cultivado durante 60 dias, alimentados com bactérias probióticas e desafiados com <i>V. parahaemolyticus</i>	63
Tabela 3: Parâmetros hematológicos do <i>R. canadum</i> , quando cultivado durante 60 dias, alimentados com ração probiótica e desafiados com <i>V. parahaemolyticus</i> .	66
Tabela 4: Principais achados histopatológicos em órgãos do <i>R. canadum</i> , alimentados com bactérias probióticas e desafiados com <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .	67

## Sumário

Página

Dedicatória

Agradecimento

Resumo

Abstract

Lista de tabelas

1- Introdução.....	11
2- Revisão de literatura.....	13
3- Referência bibliográfica .....	22
4- Artigo científico .....	33
4.1- Artigo científico I.....	33
4.2- Artigo científico II.....	53
4.2.1- Normas da Revista CAATINGA.....	73

## 1 - Introdução

O peixe *Rachycentron canadum*, comumente conhecido como beijupirá, cação de escamas, pirambijú, maruca, comedor de caranguejo e internacionalmente, por cobia, é a única espécie da família Rachycentridae. É migratório e pelágico, que ocorre em todos os mares tropicais e subtropicais, com exceção da parte central e oriental do Oceano Pacífico (SHAFFER e NAKAMURA, 1989).

Os indivíduos desta espécie habitam plataformas continentais podendo ser encontrados em profundidades de até 1.200 m, bem como águas costeiras, em baías e estuários (SHAFFER e NAKAMURA, 1989). Espécimes já foram coletados em águas de salinidade entre 22 e 44 (KAISER e HOLT, 2005) e têm sido cultivados com sucesso em sistemas com salinidade entre 5 e 30 (RESLEY et al., 2006). Sua tecnologia de cultivo tem se desenvolvido rapidamente nos últimos anos, principalmente devido a sua rápida taxa de crescimento e seu alto valor de mercado (LIAO et al., 2004).

Geralmente é encontrado sozinho ou em pequenos cardumes e é comum estarem perto de alguma estrutura flutuante ou mesmo na coluna d'água (KAISER e HOLT, 2005).

Segundo a FAO (2014), a produção mundial do cultivo da espécie no ano de 2011 foi de 40.893 t. O beijupirá é considerado um excelente alimento, por possuir carne branca bem apreciada, mas por não ser um peixe abundante no meio natural, não tem uma pesca direcionada e conseqüentemente, não é muito presente no comércio e devido à baixa oferta do produto muitos consumidores ainda desconhecem este peixe (KAISER e HOLT, 2005).

A espécie possui alta resistência à doenças (HOLT et al., 2007), boa resposta aos probióticos e aos imunostimulantes (BENETTI et al., 2008), além de tolerar ampla faixa de salinidade (RESLEY et al., 2006) e a vacinação (LIN et al., 2006).

Apesar de representar uma indústria promissora no futuro próximo, o cultivo deste peixe, ainda possui significativas limitações na produção, como por exemplo, a oferta de alevinos e as doenças causadas por bactérias que são os principais patógenos que acometem o animal (LIN et al., 2006), sendo o controle normalmente realizado através da administração de antibióticos (FIGUEIREDO e LEAL, 2008).

Neste contexto, a substituição das drogas antimicrobianas por profiláticos alternativos e a utilização de compostos à base de micro-organismos vivos tem sido adotada como prática sustentável, minimizando a utilização de produtos químicos e promovendo a sanidade dos animais cultivados.

Em aquicultura, o termo probiótico é definido como “um suplemento microbiano, formado por um cultivo de micro-organismos vivos selecionados, o qual é adicionado à dieta e/ou a água do cultivo com o propósito de melhorar o equilíbrio microbiano do trato gastrintestinal” (VERSCHUERE et al., 2000), além de melhorar o desempenho em consequência da absorção dos nutrientes e ao bom suporte ao sistema imunológico.

Assim sendo, objetivou-se cultivar experimentalmente juvenis do beijupirá com fornecimento de rações incorporadas de bactérias, isoladas do intestino de beijupirá, com características probióticas, com a finalidade de proporcionar condições para a obtenção de animais com bom desempenho zootécnico em peso e comprimento, baixo fator de conversão alimentar e alta sobrevivência.

## 2 - Revisão de literatura

A piscicultura marinha no Brasil ainda é incipiente (CAVALLI e GARCIA, 2012). Para que haja consolidação da atividade, faz-se necessários estudos integrados nas áreas de reprodução, nutrição, alimentação, tecnologia de produção e estratégias de mercado e regulamentação da atividade (TACON e DOMINY, 1999).

Dentre as várias espécies de peixe marinho disponíveis para o cultivo intensivo, o beijupirá (*Rachycentron canadum*) é considerada uma espécie de grande potencial (CHOU et al., 2001), principalmente por apresentar um rápido crescimento.

Segundo Chang (2003), a carne deste peixe, não é rica apenas em proteínas, possui também altos níveis de ácidos graxos altamente insaturados (n-3), em especial o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), além de elevados níveis de vitamina E, taurina e ornitina.

O beijupirá é um peixe migrador, raramente encontrado em cardume (BROWN-PETERSON et al., 2001). Como não costumam formar cardumes, não há captura direcionada para esta espécie, o que faz com que sua pesca, tenha pequena expressão (CAVALLI e GARCIA, 2012)

A espécie expressa características de produção relevantes, tais como a facilidade de desova e de reprodução em cativeiro (CAYLOR et al., 1994; LIAO et al., 2004; FAULK e HOLT, 2006) e elevada taxa de crescimento durante o período larval (CHOU et al., 2001) e o juvenil (FAULK e HOLT, 2006).

Vários autores indicaram características vantajosas ao cultivo do beijupirá, dentre elas, a tolerância das larvas, a diversos níveis de salinidade (FAULK e HOLT, 2006), fácil adaptação ao confinamento e aceitação de dietas disponíveis comercialmente (ARNOLD et al., 2002; LIN et al., 2006; MCLEAN et al., 2008),

produção em gaiolas com níveis satisfatórios (SCHWARZ, 2004), alta fecundidade e facilidade de desova induzida e natural em cativeiro (FRANKS et al., 2001; ARNOLD et al., 2002), resistência a doenças (SUN et al., 2009), excelente qualidade da carne (SU et al., 2000) e produção de filés de alta qualidade para o consumo em forma de “sashimi” (CHEN, 2001; CHOU et al., 2001; KAISER e HOLT, 2005; CRAIG et al., 2006).

O primeiro cultivo de beijupirá data de 1993 e foi realizado em Taiwan, em gaiolas em alto mar (KU e LU, 2000), nas águas costeiras do sul do Mar da China. Em meados da década de 2000, na Austrália e Ilhas Marshall iniciou-se o cultivo desse peixe, expandindo-se pelas Américas e Caribe. Atualmente, há projetos comerciais nos Estados Unidos, Porto Rico, Bahamas, Belize, República Dominicana, México, Panamá e Brasil (BENETTI et al., 2007, 2010; HOLT et al., 2007; CAVALLI e GARCIA, 2012). A espécie tem sido cultivada com sucesso na Ásia, sendo aproximadamente 80% da sua produção em tanques-rede em alto-mar em Taiwan (LIAO et al., 2004, FAO, 2014).

Segundo a FAO (2014), a produção mundial do *R. canadum*, para o ano de 2011, foi de 53.683,4 t, somando aquíicultura e captura. A estatística pesqueira para o beijupirá, no Brasil, demonstrou uma produção por captura de 927 t, sendo o maior volume histórico de captura apontado para o ano de 1999, onde foram pescados 1818 t (FAO, 2014). No Brasil, Cavalli e Garcia (2012) relatam cultivos nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Pernambuco, Bahia e Rio Grande do Norte, mas, nenhuma informação foi computada aos dados da FAO (2014).

No que diz respeito à aquíicultura, os maiores produtores mundiais são a China (37.210 t), Vietnã (2.000 t), Taiwan (1.123,7 t), Panamá (300 t), Colômbia (111 t) e Belize (100 t), de acordo com a FAO (2014).

No entanto, fatores de suma importância dentro da cadeia produtiva ainda merecem especial atenção para o pleno crescimento da atividade. Dentre estes, destacam-se a nutrição, principalmente por se tratar de um peixe carnívoro, visto que os custos com rações representam o maior percentual no custo total na produção (NAYLOR et al., 2000; CHOU et al., 2005; MILLER et al., 2005).

Chou et al. (2001) afirmaram que, apesar do rápido crescimento quando produzidos em gaiolas, há necessidade de melhoria na formulação das dietas, pois informações disponíveis sobre as exigências nutricionais desta espécie ainda são escassas, principalmente quanto aos aminoácidos essenciais, ácidos graxos e outros nutrientes chaves para o sucesso produtivo e viabilidade econômica em nível comercial (CRAIG et al., 2006).

Ainda não está definido o pacote tecnológico do cultivo do beijupirá, porém muitos estudos têm sido realizados no Brasil e no exterior, principalmente nas áreas de nutrição, reprodução e fisiologia, como digestibilidade de nutrientes (ZHOU et al., 2007), alimentação larval (FAULK e HOLT, 2005), exigências nutricionais (CHOU et al., 2001, FRASER e DAVIES, 2009), reprodução em cativeiro (FAULK e HOLT, 2008), efeitos da salinidade (DENSON et al., 2003), nitrogenados (FEELEY et al. 2007, RODRIGUES et al., 2007) e fisiologia do estresse (TRUSHENSKI et al., 2010).

O cultivo do beijupirá é relativamente recente, quando comparado a outras culturas já estabelecidas de peixes marinhos, como salmão do Atlântico (*Salmo salar*), robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), pargo (*Pagrus auratus*), linguados (Pleuronectiformes) e outros. Por isso, ainda há limitações significantes na sua produção, como a produção viável de ovos e juvenis em quantidade, a ausência de dietas específicas e o mercado ainda em desenvolvimento (HOLT et al. 2007).

Chou et al. (2001) utilizando regressão polinomial, estimaram que 44,5% de PB na dieta são indicados para maximizar o crescimento de juvenis. Dietas utilizadas nas

fases de berçário e engorda, foram oriundas de experiências asiáticas, adaptando-se formulações desenvolvidas para o robalo (*Lates calcarifer*) e garoupa (*Epinephilus* spp.), com conversão alimentar variando de 1,5 a 1,8 (CHOU et al., 2004).

A conversão alimentar é em torno de 1,5 na fase de engorda (LIAO et al., 2004 e BENETTI et al., 2008). O arraçoamento é realizado a uma taxa de 0,5 a 0,7% do peso corporal, com dietas de 42 a 45% de PB e 15-16% de óleo de peixe (LIAO et al., 2004).

Práticas inadequadas de alimentação utilizada causam impacto ao ambiente, além do aumento no custo financeiro, uma vez que a ração pode variar entre 45 a 59% do custo total, para cultivos em ambientes abertos e gaiolas (MIAO et al., 2009 e DOMINGUES, 2012). Entretanto, poucos estudos são realizados com o objetivo de estabelecer praticas alimentares adequadas para o beijupirá (CAVALLI e GARCIA, 2012) ou melhores fórmulas e uso de probióticos que melhorem a absorção dos nutrientes, evitando assim, impactos ambientais e aumento no custo de produção.

Su et al (2000) afirmaram que a taxa diária de arraçoamento é variável de 7,8 a 4,3%, em função da idade, para peixes entre 30 a 5000 g. Benetti (2010) ao cultivar beijupirás de 3,0 g, alimentados até a saciedade, alcançou o correspondente a 5% da biomassa total, como taxa de arraçoamento, sendo que esta chegou a 2% ao fim de nove meses de cultivo e gradual aumento do tamanho dos animais.

Costa-Bomfim (2012), utilizando alevinos de 110 g, testou o fornecimento de uma, duas, três, quatro e seis refeições, de dieta comercial e após 60 dias, não constatou diferença significativa na sobrevivência, ganho de peso, taxa de crescimento específico, fator de condição, ingestão de dieta e homogeneidade do lote de peixes. Por outro lado, em cultivos *indoor*, com recirculação de água, a alimentação deve ser preferencialmente dividida, a fim de evitar picos de consumo de oxigênio (LIAO et al., 2004; BENETTI et al., 2010 e COSTA-BOMFIM, 2012).

Em Taiwan, os peixes são frequentemente criados em viveiros desde a eclosão até 30 g, quando são transferidos para viveiros maiores ou tanques cobertos para crescimento. Após este período os peixes são criados em tanques *offshore* até o final da fase de engorda, chegando ao peso de mercado de 6-8 kg (para exportação) ou 8-10 kg, para consumo interno em Taiwan (LIAO et al. 2004).

O uso de sistemas de recirculação de água (SRA) durante a larvicultura e primeiros estágios de juvenil propicia aos produtores um controle ambiental maior, permitindo a produção de alevinos durante todo ano e expandindo a produção para regiões mais frias (FAULK et al. 2005). Segundo D'Orbcastel et al. (2009), um SRA na aquicultura é uma combinação de processos como remoção de sólidos (filtração mecânica, decantação), controle de gases (oxigênio, gás carbônico) e processos biológicos (nitrificação da amônia por biofiltro, desinfecção por UV).

Por propiciar um cultivo com maior biossegurança e manter a qualidade da água em níveis adequados, o SRA pode proporcionar maiores taxas de sobrevivência (RIDHA e CRUZ, 2001). O aumento da produtividade, juntamente com o tratamento contínuo e reuso da água, faz com que o SRA seja um sistema eficiente tanto para o produtor quanto para o meio-ambiente (D'ORBCASTEL et al. 2009).

Devido às elevadas densidades utilizadas nos sistemas de cultivo intensivo e outros problemas tais como: pouco volume de água utilizada, amplas variações de temperatura, manejo constante e ação de parasitas, expõem estes organismos cultivados a condições de estresse. Esta condição pode resultar em baixas taxas de crescimento e de eficiência alimentar, bem como uma redução na resposta imune do organismo, que é acometido por patógenos oportunistas.

Um número crescente de estudos sobre o beijupirá tem sido realizado ao longo dos últimos anos (LIAO et al., 2004; LIU et al., 2004 ; WANG et al.,2005; TURNER e ROOKER,2005; FAULK e HOLT,2005; RESLEY et al., 2006; LUNGER et al., 2006;

LI et al. 2006; HOLT et al., 2007; BENETTI et al., 2008; SANCHES et al., 2008; SUN e CHEN, 2009; DOMINGUES et al., 2009; PESSOA et al., 2009; BENETTI et al., 2008; FINES e HOLT, 2010; COSTA-BOMFIM, 2012). Porém, pesquisas a respeito da sanidade, bactérias com potencial probiótico, bem como seu uso no cultivo, encontram-se em fase inicial.

As doenças que acometem os organismos aquáticos representam uma das maiores restrições para a aquicultura. Surto de mortalidade ainda ocorrem em diferentes fases de vida dos animais, devido à ação de micro-organismos patogênicos presentes nas águas dos cultivos.

Os principais patógenos do *R. canadum* são as bactérias. Liu et al. (2003) relataram como grande problema entre os beijupirás juvenis no cultivo em gaiolas, o *Photobacterium damsela*, agente etiológico da pasteurelose. Rajan et al. (2001) e Liu et al. (2004) isolaram *Vibrio alginolyticus* de beijupirá doentes, com síndrome de gastroenterite. A doença bacteriana causada pelo *Vibrio* spp. é conhecida como vibriose e o primeiro surto de vibriose foi registrado em 2000 (RAJAN et al., 2001) e causou a morte de 45% dos estoques de um cultivo em Taiwan.

Procurando fornecer melhores condições a fim de minimizar o impacto do estresse e suas implicações como baixa conversão alimentar e uma fragilidade no sistema imune dos organismos, estudos tem sido dirigidos a identificar novos aditivos probióticos. A palavra probiótico é construída de um termo latino “pro” (para) e de outro grego “bios” que significa vida (ZIVKOVIC, 1999). A primeira definição geralmente aceita foi proposta por Fuller (1989), que considerou probiótico como sendo "um suplemento a alimentação com microbiota viva, a qual afeta benéficamente o animal hospedeiro, melhorando o equilíbrio microbiano".

O conceito de probiótico surgiu a partir das observações de pesquisadores que sustentavam que mediante a ingestão de micro-organismos benéficos era possível controlar os patogênicos, em estudos de exclusão competitiva. Estas observações se basearam nas variações da microbiota intestinal, ocasionada por fatores de stress como, temperatura, densidade de população, alimentação artificial e o manejo, o que reflete nas perdas de apetite, incidência de enfermidades e baixo crescimento (FOX, 1988; FULLER, 1989).

Dentro do hospedeiro, as bactérias probióticas, inibem a colonização e o crescimento de patógenos, competindo pelos sítios de adesão, energia disponível, nutrientes ou pela produção de compostos inibitórios (BALCÁZAR et al., 2006; TINH et al., 2007).

Balcázar et al. (2006) afirmam que as bactérias probióticas podem reduzir ou eliminar a incidência de micro-organismos patogênicos no intestino, o que é extremamente importante para o sistema imunológico do animal, para o aumento da absorção dos nutrientes, e desta forma, para melhoria do seu desempenho. Por isso é necessário que mais estudos sejam desenvolvidos no que diz respeito ao uso de alternativas profiláticas e terapêuticas no controle de doenças do peixe marinho.

A utilização do probiótico, apesar de ser considerado um tema recente, é alvo de um considerável aumento de pesquisas, e pode representar uma escolha bem-sucedida e sustentável para indústria da aquicultura.

Uma variedade de microalgas (*Tetraselmis*), leveduras (*Debaryomyces*, *Phaffia* e *Saccharomyces*), bactérias Gram-positivas (*Bacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus* e *Weissella*) e bactérias Gram-negativas (*Aeromonas*, *Alteromonas*, *Photorhodobacterium*, *Pseudomonas* e *Vibrio*) têm sido estudadas e testadas como probióticos (IRIANTO e AUSTIN, 2002).

Atualmente, os probióticos mais comumente utilizados na aquicultura são os *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Vibrio* spp., *Saccharomyces* spp., *Enterococcus* spp., *Bacillus subtilis* e *Bacillus* spp. (KUMAR et al., 2006), os quais são administrados como alimentos vivos enriquecidos, adicionados à dieta ou diretamente ao ambiente de cultivo (PANIGRAHIA et al., 2005).

Dentre os grupos conhecidos de probióticos, bactérias Gram-positivas e Gram-negativas foram avaliadas (IRIANTO e AUSTIN, 2002) e conferiram proteção contra um importante número de patógenos, incluindo *Aeromonas salmonicida* (NIKOSKELAINEN et al., 2001) muitas vezes resultando em reforço à resposta imune inata.

Muitos patógenos de peixes podem perturbar a integridade do epitélio intestinal (RINGØ et al., 2007 a, b; SALINAS et al., 2008). A redução no número de patógenos pode diminuir danos na mucosa e promover uma melhor absorção de nutrientes, com o aumento da área de superfície, melhorando o desempenho do animal.

As bactérias Gram-negativas dominam no intestino de peixes, mas algumas Gram-positivas também foram encontradas, incluindo várias bactérias lácticas (RINGØ et al., 1995; RINGØ e GATESOUBE, 1998; RINGØ e BIRKBECK, 1999). Além disso, enquanto o intestino grosso de seres humanos parece ser largamente anaeróbio com bactérias anaeróbias obrigatórias, o intestino de peixes abriga bactérias aeróbias, anaeróbias facultativas (RINGØ et al., 1995; IZVEKOVA et al., 2007) e anaeróbias obrigatórias (SILVA et al., 2005).

A utilização de células vivas de *Aeromonas sobria* GC2 e *Bacillus subtilis* JB-1, confirmaram proteção contra várias doenças bacterianas, incluindo aquelas causadas por *A. salmonicida*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus iniae*, *Vibrio anguillarum*, *V. ordalii* e *Y. ruckeri* (BRUNT et al., 2007). Também foram relatadas produções de

anticorpos com reatividade cruzada contra *Vibrio harveyi* em peixes alimentados com probióticos (ARIJO et al., 2008).

Verschuere et al. (2000) afirmaram que há uma grande necessidade de se desenvolver estratégias de controle microbiológico na aquicultura, uma vez que o desencadeamento de doenças é reconhecido como um significativo limitador dos índices de produção.

Segundo Cavalli e Garcia (2012), esta linha de pesquisa deve ser aprimorada. Geng et al., (2012) demonstraram que o fornecimento de uma dieta suplementada com um probiótico afetou positivamente os índices zootécnicos de juvenis de beijupirás, quando desafiados com o *Vibrio harveyi*.

Vine et al. (2006) propuseram um protocolo para a seleção de micro-organismos probióticos isolados a partir do próprio organismo hospedeiro que está sendo, ou se pretende cultivar. Apesar de não haver evidências demonstrando que probióticos isolados do próprio hospedeiro apresentam um desempenho melhor, quando comparados com os probióticos isolados de espécies ou ambientes diferentes, supõem-se que os riscos ambientais e para a própria espécie, são consideravelmente menores.

### 3- Referência bibliográfica

ARIJO, S.; BRUNT, J.; CHABRILLON, M.; DIAZ-ROSALES, P. and AUSTIN, B. Subcellular components of *Vibrio harveyi* and probiotics induce immune responses in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *V. harveyi*. **Journal of Fish Diseases**. v.31, p. 579 – 590, 2008.

ARNOLD, C.R.; KAISER, J.B.; HOLT, G.J. Spawning of cobia *Rachycentron canadum* in captivity. **Journal of World Aquaculture Society**. v. 33, nº 2, p. 205–208, 2002.

BALCAZAR JL, DE BLAS I, RUIZ-ZARZUELA I, CUNNINGHAM D, VENDRELL D, MUZQUIZ JL. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary Microbiology**, v. 114, p. 173 - 186. 2006.

BENETTI, D. D; SARDENBERG, B.; WELCH, A.; HOENIG, R.; ORHUN, M R.; ZINK, I. Intensive larval husbandry and fingerling production of cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**. v. 281, p. 22 – 27, 2008.

BENETTI, D.D.; ORHUN, M.R.; SARDENBERG, B.; O'HANLON, B.; WELCH, A.; HOENIG, R.; ZINK, I.; RIVERA, J.A.; DENLINGER, B.; BACCOAT, D.; PALMER, K.; CAVALIN, F. Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus). **Aquaculture Research**. v. 39, p. 701-711. 2008.

BENETTI, D.D.; O'HANLON, B.; RIVERA, J.A.; WELCH, A.W.; MAXEY, C.; ORHUN, M.R. Growth rates of cobia (*Rachycentron canadum*) cultured in open ocean submerged cages in the Caribbean. **Aquaculture**, v. 302, p. 195-201. 2010.

BENETTI, D.D.; ORHUN, M.R.; O'HANLON, B.; ZINK, I.; CAVALIN, F.G.; SARDENBERG, B.; PALMER, K.; DENLINGER, B.; BACCOAT, D. Aquaculture of Cobia (*Rachycentron canadum*) in the Americas and the Caribbean. In: Liao, I.C.; Leano, E.M. (Eds.), **Cobia Aquaculture: Research, Development, and Commercial Production**. Asian Fisheries Society, Manilla, Philippines, World Aquaculture Society, Louisiana, USA, The Fisheries Society of Taiwan, Keelung, Taiwan, and National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan, p. 57–77. 2007.

BROWN-PETERSON, N.J.; OVERSTREET, R.M.; LOTZ, J.M.; FRANKS, J.S.; BURNS, K.M. Reproductive biology of cobia, *Rachycentron canadum*, from coastal waters of the southern United States. **Fishery Bulletin**, v. 99, p. 15–28. 2001.

BRUNT, J.; NEWAJ-FYZUL, A. and AUSTIN, B. The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (*Walbaum*). **Journal of Fish Diseases** v. 29, p. 1–7, 2007.

CAYLOR, R. E., BIESIOT, P. M., FRANKS, J. S. Culture of cobia *Rachycentron canadum*: cryopreservation of sperm and induced spawning. **Aquaculture**, v. 125, p. 81-92, 1994.

CAVALLI, R.O. e GARCIA, A.S. Exigências nutricionais e alimentação do beijupirá. In: FRACALOSSO, D.M. e CYRINO, J.E.P. Nutriaqua - **Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Florianópolis, Brasil: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática - AQUABIO. p.269-282. 2012

CHANG, D. O cultivo do bijupirá em Taiwan: a escolha de um peixe de carne branca para consumidores exigentes. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 79, p. 49, setembro/dezembro de 2003.

CHEN, B.S. Studies on the net-cage culture and diseases control technology of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus). 6th Asian Fisheries **Book of Abstracts**. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 2001.

CHOU, R. L., SU, M. S., CHEN, H. Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 193, p. 81-89, 2001.

CHOU, R. L.; HER, B. Y.; SU, M. S.; HWANG, G.; WU, Y. H.; CHEN, H. Y. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 229, p. 325-333, 2005.

COSTA-BOMFIM, C. N.; PESSOA, W. V. N.; OLIVEIRA, R. L. M, FARIAS, J .L; DOMINGUES, E. C.; HAMILTON, S. e CAVALLI, R. O. **Alimentação do Beijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) cultivado com resíduos do processamento de camarão**. 2012. 126f. Tese de doutorado (Programa de Pós-Graduação em Oceanografia). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

CRAIG, S.R.; SCHWARZ, M.H.; MCLEAN, E. Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. **Aquaculture**. v. 261, p. 384-391. 2006.

DENSON, M R, KR STUART, TIJ SMITH, CR WEIRLCH, A SEGARS. Effects of Salinity on Growth, Survival, and Selected Hematological Parameters of Juvenile Cobia *Rachycentron canadum*. **Journal of World Aquaculture Society**. v. 34, p. 496 - 504. 2003.

D'ORBCASTEL, ER, JP BLANCHETON, A BELAUD. Water quality and rainbow trout performance in a Danish Model Farm recirculating system: Comparison with a flow through system. **Aquacultural Engineering**. v. 40, p.135-143. 2009.

DOMINGUES, E.C. **Viabilidade econômica do cultivo do beijupirá (*Rachycentron canadum*) em mar aberto em Pernambuco**. 2012. 84f. (Dissertação de Mestrado – Programa de Pós graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2012 Disponível em: <<http://www.pgpa.ufrpe.br/Trabalhos/2012/T2012ecd.pdf>> Acesso em: 30 de maio de 2014. 2012

FAO. **El estado mundial de la pesca y la cuicultura**. Departamento de Pesca y Acuicultura de La FAO. Organización de las naciones unidas para La agricultura y La alimentación. Roma. 223p. 2014.

FAULK, C.K.; HOLT, G.J. Advances in rearing cobia larvae in recirculating aquaculture systems: live prey enrichment and greenwater culture. **Aquaculture**. v. 249, p.231–243, 2005.

FEELEY, MW, DD BENETTI, JS AULT. Elevated oxygen uptake and high rates of nitrogen excretion in early life stages of the cobia *Rachycentron canadum* (L.), a fast-growing subtropical fish. **Journal Fish Biology**. v.71, p. 1662-1678. 2007.

FIGUEIREDO, H.C.P.; LEAL, C.A.G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, suplemento especial, p. 08-14, 2008.

FINES, B. C.; HOLT, G. J. Chitinase and apparent digestibility of chitin in the digestive tract of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**. v. 303, p. 34–39, 2010.

FOX, S. Probiotics: Intestinal inoculants for produccion animals. **Veterinary Medicine**. p.806-823, 1988.

FRANKS, J.S.; OGLE, J.T.; LOTZ, J.M.; NICHOLSON, L.C.; BARNES, D.N.; LARSEN, K.M. Spontaneous spawning of cobia, *Rachycentron canadum*, induced by

human chorionic gonadotropin (HCG), with comments on fertilization, hatching, and larval development. **Gulf and Caribbean Fisheries Institute**. v. 52, p. 598–609, 2001.

FULLER, R. Probiotics in man and animals, a review. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365–378. 1989.

GENG, X.; DONG, X. H; TAN, B. P; YANG, Q. H; CHI, S. Y; LIU, H. Y e LIU, X. Q. Effects of dietary on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture Nutrition**, v. 18, p. 48-55. 2012.

HOLT, G.J; FAULK, C.K; SCHWARZ, M.H. A review of the larviculture of cobia *Rachycentron canadum*, a warm water marine fish. **Aquaculture**, v. 268, p. 181-187. 2007.

IRIANTO, A.; AUSTIN, B. Review: Probiotics in aquaculture. **Journal of Fish Diseases**. v. 25, p. 33–642, 2002.

IZVEKOVA, G.I.; IZVEKOV, E.I. and PLOTNIKOV, A.O. Symbiotic microflora in fishes from different ecological groups. **Biological Bulletin**. v.34, p.610–618, 2007.

KAISER, J.B., G.J. HOLT. **Species Profile Cobia**. Southern Regional Aquaculture Center, n. 7202. 6 p. 2005.

KU, C.C. and LU, C.H. Sea cage culture and disease investigation of cobia (*Rachycentron canadum*) in Penghu. **Reports of Fish Disease Research**. v.20, p. 35–46. 2000.

KUMAR, R.; MUKHERJEE, S.C.; PRASAD, K.P. and PAL, A.K. Evaluation of *Bacillus subtilis* as a probiotic to Indian major carp *Labeo rohita* (Ham.). **Aquaculture Research**. v. 37, p. 1215-1221. 2006.

LIAO, I. C.; HUANG, T. S.; TSAI, W. S.; HSUEH, C. M.; CHANG, S. L.; LEAÑO, E. M. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Aquaculture**. v. 237, p. 155–165. 2004.

LIN, J. H.; CHEN, T. Y.; CHEN, M. S.; CHEN, H. E.; CHOU, R. L.; CHEN, T. I.; SU, M. S.; YANG, H. L. Vaccination with three inactivated pathogens of cobia (*Rachycentron canadum*) stimulates protective immunity. **Aquaculture**, v. 255, p. 125–132. 2006.

LIU, P.C.; LIN, J.Y.; CHUANG, W. H.; LEE, K.K. Isolation and characterization of pathogenic *Vibrio harveyi* ( *V. carchariae* ) from the farmed marine cobia fish *Rachycentron canadum* L . with gastroenteritis syndrome. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. v.20, p. 495–499. 2004.

LIU, P.C.; CHUANG, W.H. and LEE, K.K. Infectious gastroenteritis caused by *Vibrio harveyi* (*V. carchariae*) in cultured red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Journal of Applied Ichthyology**. v. 19, p. 59–61. 2003.

LUNGER, A.N; CRAIG, S. R.; MCLEAN, E. Replacement of fish meal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using an organically certified protein. **Aquaculture**. v.257, p.393–399. 2006.

MCLEAN, E.; SALZE, G.; CRAIG, S.R. Parasites, diseases and deformities of cobia. Ribarstvo: **Croatian Journal of Fisheries**, v. 66, nº 1, p.1-16. 2008.

MIAO, S.; JEN, C.C., HUANG, C.T.; HU, S.H. Ecological and economic analysis for cobia *Rachycentron canadum* commercial cage culture in Taiwan. **Aquaculture International**. v. 17, p.125-141. 2009.

MILLER, C. L., DAVIS, D. A. PHELPS, R. P. The effects of dietary protein ratio on carcass quality during the growth and body composition of juvenile and sub-adult red snapper, *Lutjanus campechanus* (Poey, 1860). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 52-60. 2005.

NAYLOR, R. L., GOLDBURG, R. J., PRIMAVERA, J. H., KAUTSKY, N., BEVERIDGE, M. C. M., CLAY J., FOLKE, C., LUBCHENCO, J., MOONEY, H., TROELL, M. Effect of aquaculture on world fish supplies. **Nature**, v. 405, p. 1017-1024. 2000.

NIKOSKELAINEN, S.; OUWEHAND, A.C.; BYLUND, G. e SALMINEN, S. Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. **Aquaculture**. v.198, p.299–236. 2001.

PANIGRAHIA, A.; KIRONA, V.; PUANGKAEWA ,J.; KOBAYASHIB, T.; SATOHA, S. e SUGITA, H. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**. v.243, p. 241-254. 2005.

PESSOA, W.V.N.; DOMINGUES, E. C.; JUNIOR, E. M. D.; OLIVEIRA, R. L. M.; RÊGO, M. G.; HAMILTON, S.; CAVALLI, R.O. Crescimento de Fêmeas e Machos de Juvenis de Beijupirá (*Rachycentron canadum*) em Cultivo Intensivo. In: XVI Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca. **Anais**. p. 217-222. 2009.

RAJAN, P.R.; LOPEZ, C.; LIN, J.H.Y. and YANG, H.L. *Vibrio alginolyticus* infection in cobia (*Rachycentron canadum*) cultured in Taiwan. **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists**. v. 21, p. 228–234. 2001.

RESLEY, M.; WEBB, K.; HOLT, J. Growth and survival of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*, at different salinities in a recirculating aquaculture system. **Aquaculture**. v. 253, p. 398–407. 2006.

RIDHA, MT, CRUZ, EM. Effect of biofilter media on water quality and biological performance of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. reared in a simple recirculating system. **Aquacultural Engineering**, v. 24, p.157-166. 2001.

RINGØ, E., GATESOUBE, F.J. Lactic acid bacteria in fish: a review. **Aquaculture**. v.160, p.177–203. 1998.

RINGØ, E.; BIRKBECK, T.H. Intestinal microflora of fish larvae and fry. **Aquaculture Research**. v.30, p.73–93. 1999.

RINGØ, E.; MYKLEBUST, R.; MAYHEW, T.M.; OLSEN, R.E. Bacterial translocation and pathogenesis in the digestive tract of larvae and fry. **Aquaculture**. v.268, p.251–264. 2007a.

RINGØ, E.; SALINAS,I.; OLSEN,R.E.; NYHAUG,A.; MYKLEBUST,R.; MAYHEW,T.M. Histological changes in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) intestine following in vitro exposure to pathogenic and probiotic bacterial strains. **Cell Tissue Research**. v.328, p.109–116. 2007b.

RINGØ, E.; STROM, E.; TABACHEK, J.A. Intestinal microflora of salmonids: a review. **Aquaculture Research**. v.26, p.773–789. 1995.

RODRIGUES, R, M SCHWARZ, B DELBOS, L SAMPAIO. Acute toxicity and sublethal effects of ammonia and nitrite for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**. v. 271, p.553-557. 2007.

SALINAS, I.; MYKLEBUST, R.; ESTEBAN, M.A.; OLSEN, R.E.; MESEGUER, J.; RINGO, E. In vitro studies of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* in Atlantic salmon (*Salmo salar*) foregut: tissue responses and evidence of protection against *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* epithelial damage. **Veterinary Microbiology**, v. 128, p.167–177. 2008.

SANCHES, E. G.; SECKENDORFF, R. W. V.; HENRIQUES, M. B.; FAGUNDES, L., SEBASTIAN, E. F. Viabilidade econômica do cultivo do bijupirá (*Rachycentron canadum*) em sistema offshore. **Informações Econômicas**, v.38, n.12, dez. 2008.

SCHWARZ, M.H. Fingerling production still bottleneck for cobia culture. **Global Aquaculture Advocate**, v. 7, n.1, p.40–41. 2004.

SHAFFER, R.V., NAKAMURA, E.L. Synopsis of biological data on the cobia *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae). **FAO Fisheries Synopsis**. p.153. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Report. Washington D.C. 1989

SILVA, F.C.P.; BRITO, M.F.G.; FARIAS, L.M. and NICOLI, J.R. Composition and antagonistic activity of the indigenous intestinal microbiota of *Prochilodus argenteus* Agassiz. **Journal of Fish Biology**. v. 67, p.1686–1698. 2005.

SU, M.S.; CHIEN, Y.H.; LIAO, I.C. Potential of marine cage aquaculture in Taiwan: cobia culture. In: Liao, I.C., Lin, C.K. (eds.). Cage Aquaculture in Asia: **Proceedings of the First International Symposium on Cage Aquaculture in Asia**. Asian Fisheries

Society, Manila, and World Aquaculture Society – Southeast Asian Chapter, Bangkok. p. 97–106. 2000.

SUN L., CHEN H. Effects of ration and temperature on growth, fecal production, nitrogenous excretion and energy budget of juvenile coxia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**. v. 292, p.197–206. 2009.

TACON, A. G. J.; DOMINY, W. G. Overview of world aquaculture and aquafeed production. **Book of Abstracts**. World Aquaculture '99, Sydney, Australia. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 853 p. 1999.

TINH N.T.N., DIERCKENS K., SORGELOOS P. and BOSSIER P. A review of the functionality of probiotics in the larviculture food chain. **Marine Biotechnology**. v. 10, p. 1-12. 2007.

TURNER, J.P.; ROOKER, J.R. Effect of dietary fatty acids on the body tissues of larval and juvenile coxia and their prey. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v. 322, p.13 – 27. 2005.

TRUSHENSKI, J, M SCHWARZ, R TAKEUCHI, B DELBOS, LA SAMPAIO. Physiological responses of coxia *Rachycentron canadum* following exposure to low water and air exposure stress challenges. **Aquaculture**. v. 307, p. 173-177. 2010.

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, p. 655–671. 2000.

VINE, N.G.; LEUKES, W.D.; KAISER, H. Probiotics in marine larviculture. **FEMS Microbiological Reviews**, v. 30, p. 404–427. 2006.

WANG, J.T.; LIU, Y.J.; TIAN, L.X. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**. v. 249, p. 439–447. 2005.

ZIVKOVIC, R. Probiotics or microbes against microbes. **Acta Medica Croatica**. v. 53, p. 23–28, 1999.

ZHOU, Q.C.; WU, Z.H.; TAN, B.P.; CHI, S.Y.; YANG, Q.H. Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**. v. 273, p 634-640. 2007

## **4- Artigo científico**

### **4.1 - Artigo científico I**

#### **APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS, EM DIETAS PARA JUVENIS DE BEIJUPIRÁ CULTIVADOS EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO**

Artigo científico a ser encaminhado a Revista **Caatinga**.

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as estabelecidas pela referida revista (em anexo).



26 condição, fator de conversão alimentar e sobrevivência, para peixes com 45 g cultivados em  
27 sistema de recirculação.

28

29 Palavras-chave: *Rachycentron canadum*. Probiótico. Crescimento. Recirculação.

30

31 \* Autor para correspondência: e-mail: [alexandredrs@yahoo.com](mailto:alexandredrs@yahoo.com)  
32 Trabalho de tese de doutorado do curso de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e  
33 Aquicultura.

34

35 <sup>(1)</sup> Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Universidade Federal  
36 Rural de Pernambuco, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900,  
37 Recife, Pernambuco, Brasil.

38 <sup>(2)</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de  
39 Pernambuco, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife,  
40 Pernambuco, Brasil.

41

42

43 **APPLICATION OF BACTERIA WITH POTENTIAL PROBIOTIC, IN DIETS OF**  
44 **JUVENILE COBIA GROWN IN THE RECYCLING SYSTEM**

45

46 **ABSTRACT** - The cobia, *Rachycentron canadum*, is a new candidate of the Brazilian  
47 aquaculture and therefore has significant limitations in production. In cultivation, the species  
48 faces several threats, such as viruses, bacteria and parasites. Their main pathogens are  
49 bacteria. These pathogens may interfere in integrity of the intestinal epithelium in fish,  
50 impairing nutrient absorption and reduce its performance. Although there is no evidence that  
51 probiotics isolated from the host itself are better than probiotics isolated from other species or  
52 environments, it is suggestive that a bacteria isolated from the host itself can result in low  
53 risks to animal. It was aimed to cultivate juvenile cobia fed diets supplemented with  
54 potentially probiotic bacteria isolated from intestines of the host itself. In order to provide  
55 conditions for obtaining animals with good growth performance. Cultures of *Lactobacillus*  
56 *plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans* and *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*

57 isolated from cobia were added to commercial feed. Probiotics tested do not showed statistical  
58 difference ( $P \geq 0.05$ ) in any of the parameters between the treatments and the control. The  
59 bacteria species used in this study, isolated from intestine of cobia, used separately as  
60 probiotics, had no influence on growth in weight and length, condition factor, feed conversion  
61 and survival factor for fish with 45 g grown in recirculating system. However, there are  
62 indications that the use of mixing the bacterial species could result in improvement in  
63 performance of juvenile cobia.

64

65 Keywords: *Rachycentron canadum*. Probiotic. Growth. Recirculation.

66

67

## 68 **INTRODUÇÃO**

69 Respondendo à significativa demanda global por pescado, a produção aquícola e o  
70 comércio de produtos para a aquicultura crescem em ritmo acelerado. Em todo o mundo, tem  
71 se observado crescimento a uma taxa média de 25% ao ano desde 2007, em comparação com  
72 apenas 0,55 % da pesca no mesmo período, o que faz com que a aquicultura seja responsável  
73 pela produção de 66,6 milhões de toneladas de pescado (FAO, 2014).

74 Na produção de peixes, o cultivo do *Rachycentron canadum*, peixe marinho conhecido  
75 como beijupirá ou cobia, tem se desenvolvido rapidamente nos últimos anos, devido ao seu  
76 alto valor de mercado. A produção mundial desse pescado, para o ano de 2011, foi 40.893 t,  
77 de acordo com a FAO (2014).

78 No Brasil, o beijupirá é um candidato recente da aquicultura, apesar de ainda possuir  
79 significativas limitações na produção. É considerado um excelente alimento, por possuir uma  
80 ótima qualidade e carne branca, mas devido à baixa oferta do produto muitos consumidores  
81 ainda desconhecem este peixe (KAISER e HOLT, 2005).

82 Em cultivo, a espécie enfrenta ameaças de diversas etiologias, sendo as bactérias, os  
83 principais patógenos, e muitas delas podem interferir na integridade do epitélio intestinal  
84 (SALINAS et al., 2008). A redução no número de patógenos pode diminuir danos na mucosa  
85 e promover uma melhor absorção de nutrientes, com o aumento da área de superfície,  
86 melhorando o desempenho do animal.

87 Na melhoria do desempenho zootécnico, o probiótico surge como um elemento  
88 benéfico no controle dos patogênicos, por exclusão competitiva, resultando na melhoria da  
89 assimilação de nutrientes. Esta observação foi baseada na ocorrência de variações na  
90 microbiota intestinal, ocasionada por fatores de estresse como, variação brusca de  
91 temperatura, densidade elevada de população, uso de alimentação artificial e o manejo  
92 inadequado, o que refletia nas perdas de apetite, enfermidades e baixo crescimento (FULLER,  
93 1989).

94 Vine et al. (2006) propuseram um protocolo para a seleção de micro-organismos  
95 probióticos isolados a partir da própria espécie hospedeira que está sendo, ou se pretende  
96 cultivar. Apesar de não haver evidências demonstrando que probióticos isolados do próprio  
97 hospedeiro apresentem um desempenho melhor, quando comparados com os probióticos  
98 isolados de espécies ou ambientes diferentes, supõem-se que os riscos ambientais e para a  
99 própria espécie, são consideravelmente menores.

100 Assim sendo, objetivou-se cultivar juvenis do beijupirá (*Rachycentron canadum*), com  
101 fornecimento de rações incorporadas de bactérias, isoladas do intestino de beijupirá, com  
102 características probióticas, com a finalidade de proporcionar condições para a obtenção de  
103 animais com bom desempenho zootécnico em peso, comprimento, baixo fator de conversão  
104 alimentar e alta sobrevivência.

105

106

## 107 MATERIAL E MÉTODOS

### 108 Design experimental

109 Cultivos experimentais foram realizados na Estação de Aquicultura Continental  
110 Professor Johei Koike da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de maio a  
111 junho de 2013. Foram utilizados 225 juvenis de beijupirá ( $45\pm 5,2$  g), adquiridos de  
112 larvicultura comercial. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente  
113 casualizado, com cinco tratamentos e três repetições, sendo utilizadas quatro bactérias e um  
114 controle.

115 Os peixes foram criados em tanques de fibra de vidro, com capacidade para 1000  
116 litros, em sistema de recirculação de água, dotados de filtro externo individual, com  
117 capacidade de filtração de  $1500 \text{ L.h}^{-1}$ , quatro pontos de aeração e sistema de drenagem, para  
118 retiradas de sólidos decantados.

119 Em cada tanque foram estocados  $15 \text{ peixes.m}^{-3}$ . Todos os peixes foram pesados, no  
120 momento da estocagem, sendo contabilizados como peso inicial de cada lote. O cultivo teve  
121 duração de 30 dias, com fornecimento de ração, duas vezes ao dia (09:00-16:00h),  
122 correspondendo a 5% da biomassa estocada no instante “T” do cultivo. As biometrias foram  
123 realizadas quinzenalmente, com a captura de todos os peixes, para mensuração de peso e  
124 comprimento.

125 Durante todo o período de cultivo foi estabelecida troca de água (5%) comum a todos  
126 os tanques, para repor as perdas por evaporação e minimizar a influência das variáveis da  
127 qualidade da água.

128 A água foi monitorada diariamente, em relação ao pH, oxigênio dissolvido e  
129 temperatura, utilizando-se um aparelho multiparâmetro e semanalmente, foram determinados  
130 os níveis de amônia, nitrito e nitrato utilizando-se espectrofotômetro e a alcalinidade por  
131 titulação. Os parâmetros iniciais de povoamento foram: salinidade de 32,0, alcalinidade de

132 152,0 mg.L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>, pH de 7,8, oxigênio acima de 4,0 mg.L<sup>-1</sup> e nitrogenados abaixo de  
133 0,05 mg.L<sup>-1</sup>.

134

### 135 **Dieta experimental e probióticos**

136 Potenciais estirpes probióticas isoladas do intestino dos beijupirás, com ótimos  
137 resultados de antagonismo a patógenos, quando testadas “in vitro” (BARROS et al., 2012),  
138 foram incorporadas à ração e testadas em cultivos experimentais. Essas bactérias foram  
139 identificadas por sua morfologia e bioquimicamente através de kits do sistema API  
140 (BioMérieux, França), tendo sido identificadas *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*,  
141 *Bacillus circulans* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

142 Os animais foram alimentados com ração comercial contendo 550 g.kg<sup>-1</sup> de proteína  
143 bruta (PB) e 90 g.kg<sup>-1</sup> de lipídeo. Essa dieta foi utilizada como ração controle e, para os  
144 tratamentos, foram adicionadas as bactérias por meio de aspersão, na proporção de 2,0 mL de  
145 caldo para cada 10 g de ração, ou seja, 3,0 x 10<sup>10</sup> UFC.kg<sup>-1</sup> de ração.

146 Para o preparo do inóculo, as bactérias liofilizadas foram ativadas em caldo MRS,  
147 durante 24 horas, em estufa a 28°C. Em seguida, foram confirmadas por meio de coloração  
148 Gram e preparadas as concentrações utilizando-se a escala de Mc Farland de 0,5 (10<sup>8</sup> UFC),  
149 com confirmação em espectrofotômetro a 600 nm.

150 O caldo contendo as bactérias foi misturado à ração, de forma homogênea, e logo  
151 após, fornecida aos animais. Testes anteriores ao uso da ração com probiótico foram  
152 realizados para confirmação da fixação das bactérias, nos quais uma amostra da ração, após a  
153 mistura, foi inoculada em Agar MRS, com posterior contagem das colônias características.

154

155

156

157 **Análise estatística**

158 Durante todo o ensaio foi avaliado o desempenho do crescimento, em peso e  
159 comprimento, fator de conversão alimentar (FCA) e o fator de condição ( $\Theta$ ) dos animais.

160 Os dados de comprimento e peso em função do tempo de cultivo foram analisados  
161 pela estatística “F” da análise de variância, para regressão e modelados de acordo com o  
162 modelo linear generalizado, segundo as formulações da Eq.1 e Eq.2, para cada tratamento  
163 com probiótico e o controle. As relações entre as variáveis foram analisadas mediante  
164 modelos multiplicativos (Eq.3). Para estimar os parâmetros destes modelos, utilizou-se a  
165 técnica dos mínimos quadrados e os parâmetros destes modelos comparados pela estatística  
166 “W” de análise de variância (Eq.4), descrita por Mendes (1999). Todas as análises foram  
167 realizadas utilizando-se o programa SysEapro v 2.0.

$$P_i = \beta_0 + \beta_1 T_i + \varepsilon_i \quad \text{Eq.1}$$

$$C_i = \beta_0 + \beta_1 T_i + \varepsilon_i \quad \text{Eq.2}$$

$$P_i = \emptyset C_i^\theta + \varepsilon_i \quad \text{Eq.3}$$

$$W = \{(N1 + N2)\text{Ln}[(SQ_{res1,2})/(N1+N2)]\} - \{N1\text{Ln}[(SQ_{res1})/(N1)]\} - \{N2\text{Ln}[(SQ_{res2})/(N2)]\} \quad \text{Eq4}$$

168 Em que: P – peso (g), C – comprimento (cm), T – tempo de cultivo (dias),  $\beta_0$  e  $\beta_1$  parâmetros  
169 do modelo,  $\emptyset$  e  $\theta$ , fatores de condição,  $\varepsilon_i$  – erro com distribuição normal  $(0, \sigma^2)$ ,  $i$  – i-ésima  
170 observação, W é a estatística a ser comparada com a distribuição do qui-quadrado; N1 e N2  
171 são os números geradores dos modelos 1 e 2;  $SQ_{res}$  - soma dos quadrados dos resíduos da  
172 análise da regressão e Ln - logarítimo neperiano.  
173  
174

175 A taxa de sobrevivência foi obtida pelo quociente entre o número de peixes ao final do  
176 cultivo e o número de peixes estocados multiplicado por 100. Para análise da sobrevivência  
177 final, biomassa final e fator de conversão alimentar foram aplicados o teste “F” de análise de  
178 variância. As médias, quando necessárias, foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey,  
179 de acordo com Mendes (1999). Todas as análises foram baseadas ao nível de confiança de  
180 5,0%.

181

182 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

183 As variáveis de qualidade de água dos tanques experimentais com os tratamentos, não  
 184 apresentaram diferença estatística ( $P \geq 0,05$ ). Os valores obtidos foram  $32,0 \pm 1,0$  para  
 185 salinidade, temperatura de  $25,0 \pm 2,5$  °C, pH de  $8,0 \pm 0,5$ , oxigênio dissolvido de  $5,2 \pm 1,3$  mg.L<sup>-1</sup>,  
 186 alcalinidade de  $140,0 \pm 10,0$  mg.L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>, nitrito  $0,06 \pm 0,03$  mg.L<sup>-1</sup> e amônia total de  
 187  $0,7 \pm 0,3$  mg.L<sup>-1</sup> que são valores de padrão aceitável para a espécie, de acordo com Holt et al.  
 188 (2007).

189 Os probióticos testados, não influenciaram na relação peso e comprimento em todos os  
 190 tratamentos ( $P \geq 0,05$ ), como pode ser observado na Tabela 1, em que consta a relação entre o  
 191 peso e o comprimento dos beijupirás. Tão pouco interferiram na relação entre peso e  
 192 comprimento em função do tempo, apresentados na Tabela 2 e na Tabela 3.

193

194 **Tabela 1:** Relação do peso e comprimento do *Rachycentron canadum*, quando submetido à  
 195 aplicação de bactérias probióticas.

Probiótico	Modelo: $P = \emptyset C^{\Theta}$ **	R <sup>2</sup> (%)	Prob (F)	EC $\Theta^*$	EC modelo
<i>Bacillus coagulans</i>	$P = 0,0042C^{3,1129}$	91,73	0,0001	a	A
<i>Lactobacillus plantarum</i>	$P = 0,0054C^{3,0292}$	88,18	0,0002	a	A
<i>Bacillus circulans</i>	$P = 0,0025C^{3,2822}$	89,31	0,0001	a	A
<i>Lactococcus lactis lactis</i>	$P = 0,0043C^{3,1035}$	82,15	0,0008	a	A
Controle	$P = 0,0028C^{3,2534}$	80,50	0,0010	a	A

196 \* - Letras iguais indicam que não houve diferença na estatística “W” ( $P \geq 0,05$ ), a 5% de  
 197 probabilidade; Prob (F) – valor da probabilidade da estatística “F” da ANOVA da regressão;  
 198 EC – estatística comparativa; R<sup>2</sup> - coeficiente de determinação; \*\* $P = \emptyset C^{\Theta}$ . Em que: P – Peso,  
 199  $\emptyset$  e  $\Theta$  - parâmetros de crescimento, C – comprimento.

200

201 **Tabela 2:** Relação do comprimento do *Rachycentron canadum* em função do tempo de  
 202 cultivo, quando submetido à aplicação de bactérias probióticas.

Probiótico	Modelo: $C=a+bT^{**}$	R <sup>2</sup> (%)	Prob (F)
<i>Bacillus coagulans</i>	$C = 20,3167 + 0,078T^a$	85,57	0,0004
<i>Lactobacillus plantarum</i>	$C = 20,5994 + 0,0772T^a$	79,61	0,0012
<i>Bacillus circulans</i>	$C = 20,5356 + 0,0727T^a$	84,89	0,0004
<i>Lactococcus lactis lactis</i>	$C = 20,7522 + 0,066T^a$	74,47	0,0027
Controle	$C = 20,35 + 0,056T^a$	68,24	0,0061

203 \* - Letras iguais indicam que não houve diferença na estatística “W” ( $P \geq 0,05$ ); R<sup>2</sup> -  
 204 coeficiente de determinação. \*\*  $C=a+bT$ , em que C – comprimento, “a” e “b” - parâmetros de  
 205 crescimento e T – tempo do cultivo; Prob (F) – valor da probabilidade da estatística “F” da  
 206 ANOVA da regressão.  
 207

208 **Tabela 3:** Relação do peso do *Rachycentron canadum* em função do tempo de cultivo,  
 209 quando submetido à aplicação de bactérias probióticas.

Probiótico	Modelo: $P=a+bT^{**}$	R <sup>2</sup> (%)	Prob (F)
<i>Bacillus coagulans</i>	$P = 48,7344 + 0,7422T^a$	97,29	0,0001
<i>Lactobacillus plantarum</i>	$P = 50,6644 + 0,7429T^a$	93,05	0,0001
<i>Bacillus circulans</i>	$P = 48,6483 + 0,7352T^a$	97,28	0,0001
<i>Lactococcus lactis lactis</i>	$P = 51,025 + 0,7023T^a$	94,78	0,0001
Controle	$P = 47,756 + 0,6288T^a$	91,66	0,0001

210 \* - Letras iguais indicam que não houve diferenças na estatística “W” ( $P \geq 0,05$ ); R<sup>2</sup> -  
 211 coeficiente de determinação. \*\*  $P=a+bT$ , em que P – peso, “a” e “b” - parâmetros de  
 212 crescimento e T – tempo do cultivo; Prob (F) – valor da probabilidade da estatística “F” da  
 213 ANOVA da regressão.  
 214

215  
 216 Ao analisar os dados exibidos pela Tabela 1, verifica-se que as relações matemáticas  
 217 entre as variáveis peso e comprimento dos beijupirás, quando submetidos a diferentes

218 probióticos, expressam vários fatores zootécnicos da espécie, enfatizando o fator de condição  
219 “ $\theta$ ” pelo acúmulo de gordura (FROESE, 2006) e o tipo de crescimento da população. O  
220 crescimento em peso resultou em valores de “ $\theta$ ” maiores que 3, indicando um crescimento  
221 alométrico positivo, entretanto, sem diferença estatística ( $P \geq 0,05$ ), entre os modelos.

222 Apesar dos dados apresentados na Tabela 2 e Tabela 3 não denotarem diferenças  
223 estatísticas, quando utilizada à ração adicionada com probiótico, ao substituir o valor de “T”,  
224 pelo tempo de cultivo de 30 dias, tanto para o peso (g), como para o crescimento (cm), pode-  
225 se verificar que numericamente, os tratamentos com probiótico, foram melhores que a ração  
226 controle. Qualitativamente esses resultados numéricos, podem ser indicativos da ordem de  
227 eficiência dos probióticos *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Bacillus*  
228 *coagulans* e *Bacillus circulans*.

229 Um fator que se deve levar em consideração é a densidade de povoamento. Segundo  
230 Batista (2011), os beijupirás não toleram adensamento, sendo esse, um possível fator de  
231 interferência nos resultados. De acordo com Murphy et al. (1991), o adensamento afeta  
232 claramente a relação peso/crescimento dos organismos e valores de “ $\theta$ ” diferentes de 3 podem  
233 indicar problemas ligados ao número de indivíduos por unidade de área, como também  
234 prejuízos provocados por problemas nutricionais.

235 Ao longo do cultivo, identificamos comportamentos de agressividade entre os peixes e  
236 observou-se que havia uma dominância dos peixes maiores sobre os menores. Em aquicultura  
237 comercial do beijupirá, um grande número de peixes são mantidos dentro de uma única  
238 estrutura de criação e é bastante comum que o comportamento durante o período de  
239 alimentação conduza a interações agressivas. Sob estas condições, também é difícil assegurar  
240 que todos os peixes são alimentados até a saciedade. Infelizmente, pouco se sabe sobre a  
241 hierarquia de tamanho e dominância social entre beijupirá em condições de produção  
242 (COSTA-BOMFIM et al., 2012).

243 Goldan et al (2003) e Montero et al (2009) demonstraram que existe uma hierarquia de  
244 dominância linear, estabelecida em grupos de menos de 10 peixes da espécie *Sparus aurata* e  
245 que as interações agressivas ocorrem durante a alimentação (GOLDAN et al, 2003). O *S.*  
246 *aurata*, no entanto, é um peixe de cardume, o que contrasta com o beijupirá, uma espécie que  
247 é geralmente solitária ou encontrada em grupos de dois a oito indivíduos (SHAFFER e  
248 NAKAMURA, 1989), o que pode tornar a competição por alimento ainda mais acirrada, com  
249 consequente crescimento heterogêneo, em parte, o baixo índice determinístico ( $R^2$ ) dos  
250 modelos encontrados corrobora com esta afirmação.

251 O crescimento heterogêneo em peixes cultivados pode ocorrer por alguns fatores,  
252 sendo considerado como o principal deles, a competição direta por alimento, em que os peixes  
253 maiores consomem mais, por sua maior agressividade e agilidade, impedindo os menores a  
254 terem acesso ao alimento, principalmente quando existe restrição alimentar (MAGNUSON,  
255 1962). Outro fator é a maior mobilidade dos peixes menores fugindo dos maiores ou em busca  
256 por alimento, gerando um maior gasto energético e estresse, o que consequentemente,  
257 interfere no seu crescimento (RUBENSTEIN, 1981).

258 Segundo Batista (2011), grupos homogêneos de peixes pequenos (2,0-3,0 g) em  
259 condições adequadas de densidade e oferta de alimentos, apresentam melhores taxas de  
260 crescimento em relação a grupos de peixes grandes ( $\geq 8,0$  g), fator este, que pode ter  
261 contribuído para igualdade estatística dos parâmetros avaliados no presente estudo.

262 As taxas de sobrevivência e a conversão alimentar são apresentadas na Tabela 4 e  
263 foram iguais ( $P \geq 0,05$ ) em todos os tratamentos. Alguns autores sugerem que bactérias podem  
264 apresentar características probióticas que influenciam no crescimento, na imunidade ou em  
265 ambos. Entretanto, em diversos estudos a associação entre bactérias é a condição mais  
266 indicada para a efetiva ação de um probiótico.

267 Levando-se em consideração apenas as médias dos resultados obtidos neste  
 268 experimento, em detrimento à comparação estatística, pode-se evidenciar uma tendência de  
 269 melhor desempenho no FCA dos animais submetidos aos probióticos *Bacillus coagulans*,  
 270 *Bacillus circulans*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*,  
 271 sequencialmente.

272

273 **Tabela 4:** Parâmetros zootécnicos do *Rachycentron canadum*, quando cultivado durante 30  
 274 dias, e submetido à aplicação de bactérias probióticas.

Probiótico	Sob (%)	Pf (g)	FCA
<i>Bacillus coagulans</i>	100,0±0	71,23±1,75 <sup>a</sup>	4,06±0,09 <sup>a</sup>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	100,0±0	72,80±1,80 <sup>a</sup>	4,17±0,57 <sup>a</sup>
<i>Bacillus circulans</i>	100,0±0	71,00±2,30 <sup>a</sup>	4,08±0,06 <sup>a</sup>
<i>Lactococcus lactis lactis</i>	100,0±0	71,70±0,70 <sup>a</sup>	4,38±0,51 <sup>a</sup>
Controle	100,0±0	67,10±3,05 <sup>a</sup>	5,00±1,77 <sup>a</sup>

275 \* - Letras iguais indicam que não houve diferença estatística ( $P \geq 0,05$ ); Sob –  
 276 sobrevivência, Pf – peso final, FCA – fator de conversão alimentar.  
 277

278 Ao comparar os dados numéricos obtidos pela aplicação dos modelos exibidos nas  
 279 Tabelas 2 e Tabela 3, juntamente com as médias obtidas para o FCA (Tabela 4), pode-se  
 280 supor que a aplicação de uma ração composta com as bactérias *Bacillus coagulans* e  
 281 *Lactobacillus plantarum*, resultaria na obtenção de maior crescimento em peso e  
 282 comprimento e melhor FCA. Maior crescimento, por meio da suplementação com *Bacillus*  
 283 spp e *Lactobacillus* spp, em ração para diversos peixes, tem sido reportada por diversos  
 284 autores (GHOSH et al., 2003; ALY et al., 2008; SON et al. 2009).

285 Em algumas espécies de peixes, como a carpa capim, o uso do *Lactobacillus* spp. não  
286 surtiu efeito, tendo em vista que não são capazes de colonizar o intestino do animal, tendo a  
287 sua concentração decaído, poucos dias após a parada da ingestão (WU et al., 2012).

288 Avaliação do desempenho como probiótico, do *Bacillus* spp, *Lactococcus* spp,  
289 *Lactobacillus* spp, tem sido realizados por meio do fornecimento sob diversas condições:  
290 como bactérias viáveis (BALCÁZAR et al., 2006; ALY et al., 2008), inativas (SALINAS et  
291 al., 2006) e liofilizadas (IPINIGRAHI et al., 2007). Tem-se demonstrado o grande potencial  
292 destas bactérias, para a saúde dos animais, com o aumento da atividade oxidativa, do  
293 percentual de hematócritos e leucócitos, da lisozima e da atividade fagocitária, todavia, sem  
294 caracterização de melhoria do desempenho em crescimento, quando utilizadas de forma  
295 isolada. Por outro lado em pesquisas realizadas a partir de um mix de bactérias (ALY et al.,  
296 2008; GENG et al., 2012) foi indicado como um grande potencial na melhoria dos parâmetros  
297 zootécnicos.

298 Geng et al. (2012) testaram um mix de bactérias probióticas contendo *Bacillus subtilis*  
299 ( $7,0 \times 10^9$  UFC.g<sup>-1</sup>), *B. linqueniformis* ( $3,0 \times 10^9$  UFC.g<sup>-1</sup>), *Lactobacillus* spp.  
300 ( $5,0 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>) e *Artherobacter* spp ( $1,0 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>) e avaliaram o crescimento,  
301 imunidade não-específica e proteção contra *Vibrio harvey* em beijupirá, não encontrando  
302 diferença estatística na sobrevivência, nas diversas concentrações bacterianas utilizadas (0,0;  
303 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 g.kg<sup>-1</sup> de ração) do probiótico. Entretanto, a suplementação com o  
304 probiótico, minimizou o impacto da infecção pelo víbrio, tendo sido apontada a concentração  
305 de 3,3 g.kg<sup>-1</sup> de ração, como ideal para o mix do probiótico.

306 Salinas et al. (2006, 2008) afirmaram que a utilização de duas bactérias diferentes  
307 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp *lactis* e *Bacillus subtilis*) poderiam ser mais eficazes que um  
308 probiótico com apenas uma delas. Segundo Aly et al. (2008), uma ração adicionada de

309 *B. subtilis* e *L. acidophilus*, melhoraria a resposta imune e resistência a doenças em tilápia  
310 nilótica.

311 Outro fator que deve ser levado em consideração é a dose do probiótico. Nos  
312 tratamentos utilizados no presente estudo, a dosagem utilizada foi de  $3,0 \times 10^{10}$  UFC.kg<sup>-1</sup> de  
313 ração (2,0 mL, a  $1,5 \times 10^8$  UFC, para cada 10g). Son et al. (2009) encontraram melhor  
314 resposta ao usar o *L. plantarum* a  $10^8$  UFC.kg<sup>-1</sup>, frente concentrações de  $10^6$  e  $10^{10}$  UFC.kg<sup>-1</sup>  
315 de ração, em testes de crescimento e resposta imune para *Epinephelus coioides*. Nikoskelainen  
316 et al. (2001) afirmaram que doses mais baixas do probiótico, podem falhar, enquanto doses  
317 maiores, podem causar efeitos deletérios, ao estudar inclusão de probióticos para truta  
318 arco-íris.

319 Ghosh et al. (2008) demonstraram que a utilização de altas concentrações do  
320 probiótico nem sempre resulta em benefício ao crescimento dos peixes. Pesquisas realizadas  
321 por Sun et al. (2010), ao alimentar *Epinephelus coioides* com *Bacillus* spp adicionado à ração,  
322 não encontraram diferenças no crescimento da espécie, sendo estes resultados, semelhantes  
323 aos encontrados no presente estudo.

324 Giri et al. (2013) ao testar a inclusão de *L. plantarum* nas concentrações de  $1,0 \times 10^6$ ,  
325  $1,0 \times 10^8$  e  $1,0 \times 10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup> de ração para o *Labeo rohita*, concluíram que a inclusão  
326 suficiente para melhorar o crescimento, seria de  $1,0 \times 10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>.

327 Geng et al. (2012) concluíram que os efeitos das dietas com probióticos são percebidos  
328 quando a administração oral, ocorre por longos períodos e que estes resultados só são  
329 satisfatórios quando se utiliza probiótico composto (mais de uma bactéria), melhorando o  
330 crescimento e aspectos imunológicos do beijupirá.

331 Balcázar et al. (2006) e Wu et al. (2012) indicaram que os animais coexistem  
332 pacificamente e em simbiose complexa, com vários micro-organismos, incluindo patógenos e

333 probióticos e que bactérias do próprio intestino dos peixes podem ser importantes fontes  
334 destes probióticos.

335 Segundo Nayak (2010), pesquisas básicas ainda são necessárias não só para avaliar as  
336 interações inter e intraespecíficas entre diversos tipos de probióticos, mas também para avaliar  
337 aspectos de segurança ambiental, a fim de determinar qual a melhor estratégia para seu uso.  
338 Esta afirmação foi corroborada com os resultados obtidos no presente estudo, uma vez, que há  
339 indicativos de que a utilização de uma mistura de bactérias, ao invés da aplicação de apenas  
340 uma, poderia resultar em melhoria no desempenho dos juvenis de beijupirá.

341

## 342 **CONCLUSÃO**

343 Bactérias com potencial probiótico isoladas do intestino do beijupirá, quando  
344 utilizadas isoladamente, não tem influência sobre o crescimento, em peso e comprimento,  
345 bem como no fator de condição, fator de conversão alimentar e sobrevivência, para peixes  
346 com 45 g cultivados em sistema de recirculação.

347

## 348 **AGRADECIMENTOS**

349 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela  
350 concessão da bolsa de doutorado e financiamento do projeto “Probio-Cobia” e ao Conselho  
351 Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

352

353

## 354 **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

355 ALY, S.M, AHMED Y.A.G, GHAREEB, A.A.A; MOHAMED, M.F. Studies on *Bacillus*  
356 *subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and  
357 resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. **Fish Shellfish**  
358 **Immunology**, v. 25, p. 128-136. 2008.

359

360 BALCAZAR JL, DE BLAS I, RUIZ-ZARZUELA I, CUNNINGHAM D, VENDRELL D,  
361 MUZQUIZ JL. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary Microbiology**, v. 114,  
362 p. 173-186. 2006.

363

364 BARROS, C. N; NASCIMENTO, D. L; GUIMARÃES, J. M; PEDROSA, V. F; SILVA, A.  
365 D. R e MENDES, E. S. **Bactérias com potencial probiótico isoladas do intestino do**  
366 **beijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766)**. 2012. 51 f. Dissertação (Mestrado em  
367 Recursos Pesqueiros e Aquicultura). – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife,  
368 2012.

369

370 BATISTA, T. V. M. **Influencia da heterogeneidade de tamanho, na sobrevivência,**  
371 **crescimento e canibalismo em juvenis de beijupirá (*Rachycentron canadum*)**. 2011. 44 f.  
372 Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina,  
373 Florianópolis, 2011.

374

375 COSTA-BOMFIM, C. N.; PESSOA, W. V. N.; OLIVEIRA, R. L. M, FARIAS, J .L;  
376 DOMINGUES, E. C.; HAMILTON, S. e CAVALLI, R. O. **Alimentação do Beijupirá**  
377 **(*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) cultivado com resíduos do processamento de**  
378 **camarão**. 2012. 126f. Tese de doutorado (Programa de Pós-Graduação em Oceanografia).  
379 Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

380

381 FAO. **El estado mundial de la pesca y la cuicultura**. Departamento de Pesca y Acuicultura  
382 de La FAO. Organización de las naciones unidas para La agricultura y La alimentación.  
383 Roma. 223p. 2014.

384

385 FROESE, R.: Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-  
386 analysis and recommendations. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 22, p. 241–253. 2006.

387

388 FULLER, R. Probiotics in man and animals, a review. **Journal of Applied Bacteriology**,  
389 v. 66, p. 365–378. 1989.

390

391 GENG, X.; DONG, X. H; TAN, B. P; YANG, Q. H; CHI, S. Y; LIU, H. Y e LIU, X. Q.  
392 Effects of dietary on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance  
393 of cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture Nutrition**, v. 18, p. 48-55. 2012.

394

395 GHOSH, K., SEN, S.K. e RAY, A.K. Supplementation of an isolated fish gut bacterium,  
396 *Bacillus circulans*, in formulated diets for rohu, *Labeo rohita*, fingerlings. **Israel Journal**  
397 **Aquaculture**. Bamidgeh, v. 55, p. 13–21. 2003.

398

399 GHOSH, S., SINHA, A., SAHU, C. Dietary probiotic supplementation in growth and health  
400 of live-bearing ornamental fishes. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, p. 289–299. 2008.

401

402 GIRI, S.S., SUKUMARAN, V., OVIYA, M. Potential probiótico *Lactobacillus plantarum*  
403 VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish  
404 *Labeo rohita*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 34, p. 660–666. 2013.

405

406 GOLDAN, O., POPPER, D., KARPLUS, I. Food competition in small groups of juvenile  
407 gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **The Israel Journal of Aquaculture** – Bamidgeh, v. 55,  
408 p. 94-106. 2003.

409

410 HOLT, G.J.; FAULK, C.K.; SCHWARZ, M.H., A review of the larviculture of cobia,  
411 *Rachycentron canadum*, a warm water marine fish. **Aquaculture**. v.268, p.181–187. 2007.

412

413 IPANIGRAHI A, KIRON V, SATOH S, HIRONO I, KOBAYASHI T, SUGITA H. Immune  
414 modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon  
415 probiotic feeding. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 31, p. 372-382. 2007.

416

417 KAISER, J.B.; HOLT, G.J. **Species Profile Cobia**. Southern Regional. Aquaculture Center  
418 Publication, 7202. 6 p. 2005.

419

420 MAGNUSON, J.J. An analysis of aggressive behavior, growth and competition for food and  
421 space in medaka (*Oryzia latipes*). **Canadian Journal of Zoology**, v. 40, p. 313-363. 1962.

422

423 MENDES, P.P. **Estatística aplicada à Aquicultura**. Bagaço: Recife. 1999. 265p.

424

425 MONTERO, D., LALUMERA, G., IZQUIERDO, M. S., CABALLERO, M. J., SAROGLIA,  
426 M., TORT, L. Establishment of dominance relationships in gilthead sea bream *Sparus aurata*  
427 juveniles during feeding: effects on feeding behaviour, feed utilization and fish health.  
428 **Journal of Fish Biology**, v. 74, p. 790-805. 2009.

429

430 MURPHY B.R.; WILLIS D.W.; SPRINGER, T.A. The Relative Weight Index in Fisheries  
431 Management: Status and Needs. **Fisheries**. v. 16, n. 2, p. 30-38. 1991.

432

433 NAYAK, S. K. Probiotics and immunity: a fish perspective. **Fish & Shellfish Immunology**,  
434 v. 29, p. 2-14. 2010.

435

436 NIKOSKELAINEN. S, OUWEHAND. A, BYLUND. G, SALMINEN. S. Protection of  
437 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*.  
438 **Aquaculture**, v. 198, p. 229-236. 2001.

439

440 RUBENSTEIN, D. I. Individual variation and competition in the Everglades pygmy sunfish.  
441 **Journal Animal Ecology**, v. 50, p. 337-350. 1981.

442

443 SALINAS I, DIAZ-ROSALES P, CUESTA A, MESEGUER J, CHABRILLON M,  
444 MORINIGO MA. Effect of heat-inactivated fish and non-fish derived probiotics on the innate

445 immune parameters of a teleost fish (*Sparus aurata* L.). **Veterinary Immunology**  
446 **Immunopathology**, v. 111, p. 279-286. 2006.

447

448 SALINAS, I.; MYKLEBUST, R.; ESTEBAN, M.A.; OLSEN, R.E.; MESEGUER, J.;  
449 RINGO, E. In vitro studies of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* in Atlantic salmon  
450 (*Salmo salar*) foregut: tissue responses and evidence of protection against *Aeromonas*  
451 *salmonicida* subsp. *salmonicida* epithelial damage. **Veterinary Microbiology**, v. 128,  
452 p.167–177. 2008.

453

454 SHAFFER, R.V., NAKAMURA, E.L. Synopsis of biological data on the cobia *Rachycentron*  
455 *canadum* (Pisces: Rachycentridae). **FAO Fisheries Synopsis** p153. U.S. Department of  
456 Commerce, NOAA Technical Report. Washington D.C. 1989

457

458 SON, V.M., CHANG, C.C., WU, M.C., GUU, Y.K., CHIU, C.H. e CHENG, W.T. Dietary  
459 administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate  
460 immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. **Fish Shellfish**  
461 **Immunology**, v. 26, p. 691–698. 2009.

462

463 SUN, Y.Z., YANG, H.L., MA, R.L., LIN, W.Y. Probiotic applications of two dominant gut  
464 *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune  
465 responses of grouper *Epinephelus coioides*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 29,  
466 p. 803–809. 2010.

467

468 VINE, N.G.; LEUKES, W.D.; KAISER, H. Probiotics in marine larviculture. **FEMS**  
469 **Microbiological Reviews**, v. 30, p. 404–427. 2006.

470

471 WU S, WANG G, ANGERT ER, WANG W, LI W, ZOU H. Composition, diversity, and  
472 origin of the bacterial community in grass carp intestine. **PLOS One**. v.7: e30440  
473 doi:10.1371/journal.pone.0030440. 2012.

474

## 4. 2 - Artigo científico II

### **EFEITO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS NAS VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS E ZOOTÉCNICAS DE BEIJUPIRÁS, DESAFIADOS COM VIBRIO**

Artigo científico a ser encaminhado a Revista **Caatinga**.

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as estabelecidas pela referida revista (em anexo).

1       **EFEITO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS NAS VARIÁVEIS ZOOTÉCNICAS E**  
2       **HEMATOLÓGICAS DE BEIJUPIRÁS, DESAFIADOS COM VIBRIO**  
3

4       \*Alexandre Duarte Rodrigues da Silva <sup>(1)</sup>, João Menezes Guimarães <sup>(2)</sup>, Virgínia Fonseca  
5       Pedrosa <sup>(2)</sup>, Fernando Leandro dos Santos <sup>(2)</sup> e Emiko Shinozaki Mendes <sup>(1,2)</sup>  
6

7       **RESUMO** – No Brasil, o beijupirá é um candidato recente da piscicultura marinha  
8 possuindo limitações na produção. O cultivo da espécie enfrenta ameaças de diversas  
9 etiologias, sendo as bactérias, os principais patógenos. Das bactérias patogênicas ao beijupirá,  
10 os v́brios são os mais comumente encontrados em diversos ambientes aquáticos, sendo o  
11 *Vibrio parahaemolyticus* considerado um dos mais importantes patógenos, pois acometem os  
12 animais e os humanos. Estratégias de combate a esses patógenos têm sido estudadas como  
13 alternativas aos quimioterápicos e nesse sentido têm-se buscado a utilização de bactérias com  
14 potencial probiótico, sob diversas formas. Assim sendo, cultivou-se experimentalmente  
15 juvenis do beijupirá (*Rachycentron canadum*), fornecendo rações incorporadas de bactérias  
16 com características probióticas, isoladas do intestino de beijupirá, objetivando avaliar o seu  
17 crescimento, a sobrevivência, o fator de conversão alimentar (FCA), as variáveis  
18 hematológicas e possíveis alterações teciduais em peixes desafiados com *V.*  
19 *parahaemolyticus*. Cultivos experimentais foram realizados fornecendo-se ração comercial  
20 adicionada de *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans* e *Lactococcus*  
21 *lactis* subsp. *Lactis*, isolados de beijupirás. Os probióticos testados apresentaram diferença  
22 estatística (P<0,05) nos parâmetros avaliados, entre os tratamentos e o controle, quando  
23 desafiados, evidenciando uma melhoria na sobrevivência, FCA e variáveis hematológicas. As  
24 bactérias retiradas do intestino do beijupirá, utilizadas isoladamente como probióticos, tem  
25 influência sobre a sobrevivência, o crescimento, em peso, o fator de conversão alimentar e

26 variáveis hematológicas, para peixes entre 45 e 100g cultivados em sistema de recirculação e  
27 desafiados com *Vibrio parahaemolyticus*.

28

29 Palavras-chave: *Rachycentron canadum*. Probiótico. Hematologia. Recirculação.

30

31 \* Autor para correspondência: e-mail: [alexandredrs@yahoo.com](mailto:alexandredrs@yahoo.com)  
32 Trabalho de tese de doutorado do curso de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e  
33 Aquicultura.

34

35 <sup>(1)</sup> Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Universidade Federal  
36 Rural de Pernambuco, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900,  
37 Recife, Pernambuco, Brasil.

38 <sup>(2)</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de  
39 Pernambuco, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife,  
40 Pernambuco, Brasil.

41

42

43 **EFFECT OF PROBIOTIC BACTERIA IN ZOOTECHNICAL AND HEMATOLOGIC**

44 **VARIABLE OF COBIA, CHALLENGED WITH VIBRIO**

45 **ABSTRACT** - In Brazil, the cobia is a recent candidate marine fish farming and therefore  
46 still has significant limitations in production. In cultivation, the species faces threats of  
47 various etiologies, bacteria, primary pathogens. Of pathogenic bacteria to the cobia, the  
48 vibrios are most commonly found in diverse aquatic environments, and *Vibrio*  
49 *parahaemolyticus* considered one of the most important pathogens therefore affect animals  
50 and humans. Strategies to combat these pathogens have been studied as alternatives to  
51 chemotherapy and in this sense have been sought using bacteria with probiotic potential in  
52 various forms. Therefore, it was aimed to cultivate experimentally juvenile cobia  
53 (*Rachycentron canadum*), providing rations incorporated bacteria with probiotic  
54 characteristics, isolated from the intestine of cobia, to evaluate the growth, survival, feed  
55 conversion factor (FCA), the variables hematologic and possible tissue changes in challenged

56 fish with *V. parahaemolyticus*. Experimental cultures were performed with addition of  
57 *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans* and  
58 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolated from cobia, the commercial feed. Probiotics tested  
59 showed statistical difference ( $P < 0.05$ ) in the evaluated parameters between treatments and  
60 control, when challenged, showing an improvement in survival, FCA and haematological  
61 variables. Bacteria taken from the intestine of cobia, used alone as probiotics, have influence  
62 on the survival, growth, weight, the conversion factor from food and haematological  
63 variables, for fish between 45 and 100g grown in recirculating system and challenged with  
64 *Vibrio parahaemolyticus*.

65

66 Keywords: *Rachycentron canadum*. Probiotic. Hematology. Recirculation.

67

## 68 **INTRODUÇÃO**

69 A tecnologia de cultivo do *Rachycentron canadum*, peixe marinho mais conhecido  
70 como beijupirá, tem se desenvolvido rapidamente nos últimos anos devido ao seu alto valor  
71 de mercado. É considerado um excelente alimento, por possuir carne branca bem apreciada,  
72 mas devido à baixa oferta do produto muitos consumidores ainda desconhecem este peixe  
73 (KAISER e HOLT, 2005).

74 Segundo a FAO (2014), a produção mundial do beijupirá cultivado em 2011 foi de  
75 40.893 t. No entanto, no Brasil, o beijupirá é um candidato recente da aquicultura e, portanto,  
76 ainda possui significativas limitações na produção. Em cultivo, a espécie enfrenta ameaças de  
77 diversas etiologias, sendo os principais patógenos as bactérias, que podem interferir na  
78 integridade do epitélio intestinal (SALINAS et al., 2008).

79 Das bactérias patogênicas ao beijupirá, ressaltam-se as do gênero *víbrio*, comumente  
80 encontradas em diversos ambientes aquáticos. O *Vibrio parahaemolyticus* e o *V. colerae* são

81 considerados importantes patógenos, por acometerem os animais e os humanos (XIE et al.,  
82 2005). Vários autores têm indicado o *V. parahemolyticus* como a espécie de maior virulência  
83 entre as bactérias patogênicas (MCCARTHY et al., 1999; XIE et al., 2005; LIN et al., 2006).

84 Liao et al. (2004) reportaram uma perda de 1.500 t de beijupirá, em Taiwan,  
85 ocasionada pela ação de doenças causadas por víbrios, outras bactérias e fenômenos  
86 climáticos. No Brasil, Figueiredo (2011) reportou a ocorrência de *Photobacterium damsela*  
87 subsp *piscicida*, como uma bactéria associada a problemas no cultivo, em uma larvicultura  
88 comercial de beijupirá no estado de São Paulo.

89 Desenvolver estratégias para combater os patógenos, sem a utilização de  
90 quimioterápicos são iniciativas recorrentes em diversas pesquisas, a fim de promover um  
91 desenvolvimento sustentável da aquicultura. Neste sentido, tem-se buscado a utilização de  
92 bactérias com potencial probiótico, sob diversas formas de utilização: inseridas em dietas, no  
93 ambiente de cultivo, em vacinas e em banhos de imersão.

94 Apesar de não haver evidências demonstrando que probióticos isolados do próprio  
95 hospedeiro apresentam um melhor desempenho, quando comparados com os probióticos  
96 isolados de espécies ou ambientes diferentes, supõem-se que os riscos ambientais e para a  
97 própria espécie, são consideravelmente menores. Deste modo, Vine et al. (2006) propuseram  
98 um protocolo para a seleção de micro-organismos probióticos isolados a partir do próprio  
99 organismo hospedeiro que está sendo, ou se pretende cultivar.

100 Assim sendo, objetivou-se cultivar experimentalmente juvenis do beijupirá  
101 (*Rachycentron canadum*), fornecendo rações incorporadas de bactérias com características  
102 probióticas, isoladas do intestino de beijupirá, para avaliar o desempenho em peso, a  
103 sobrevivência, o fator de conversão alimentar, as variáveis hematológicas e possíveis  
104 alterações teciduais em beijupirás desafiados com *Vibrio parahaemolyticus*.

105

106 **MATERIAL E MÉTODOS**107 **Design experimental**

108 Cultivos experimentais foram realizados na Estação de Aquicultura Continental  
 109 Professor Johei Koike da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no período  
 110 de maio a julho de 2013, utilizando-se 300 juvenis de beijupirá ( $45 \pm 5,2$  g), adquiridos de  
 111 larvicultura comercial.

112 O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com 10  
 113 tratamentos e três repetições, sendo utilizadas quatro bactérias probióticas (com e sem  
 114 aplicação do patógeno *Vibrio parahaemolyticus*), um controle positivo (com aplicação do  
 115 patógeno e ração sem probiótico) e um controle negativo (sem aplicação do patógeno e ração  
 116 sem probiótico), conforme apresentado na Tabela 1.

117

118 **Tabela 1:** Esquema dos tratamentos utilizados no cultivo experimental, de juvenis de  
 119 beijupirá, alimentados com ração contendo probiótico e desafiados com  
 120 *Vibrio parahaemolyticus*.

<b>Bactéria</b>	<i>Bacillus</i> <i>coagulas</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i>	<i>Bacillus</i> <i>circulans</i>	<i>Lactococcus</i> <i>lactis lactis</i>	Controle <sup>1</sup>
<b>Trat.</b>	B1(+)* B1(-)*	L1(+) L1(-)	B2(+) B2(-)	L2(+) L2(-)	C(+) C(-)

121 \*Em que: (+) - com aplicação, (-) - sem aplicação de *V. parahaemolyticus*, na ração e  
 122 1 - ração comercial sem adição de probiótico.

123

124 O experimento foi realizado em duas etapas, ambas com duração de 30 dias. Na  
 125 primeira, os animais de todos os tratamentos foram alimentados com ração adicionada de  
 126 bactérias probióticas (exceto o controle). Na segunda etapa, parte dos peixes anteriormente  
 127 alimentada com ração adicionada de probiótico e um grupo controle (B1+, L2+, B2+, L2+,  
 128 C+) foram desafiados com o *V. parahaemolyticus* e a outra metade do grupo (B1-, L1-, B2-,

129 L2-) permaneceu sendo alimentada somente com ração probiótica, exceto os de um grupo  
130 controle (C-) que continuaram sendo alimentados com ração comercial sem adição de  
131 probiótico ou patógeno.

132 Os peixes foram criados em tanques de fibra de vidro, com capacidade para 1000 L,  
133 em sistema de recirculação de água, dotados de filtro externo individual, com capacidade de  
134 filtração de 1500 L.h<sup>-1</sup>, com quatro pontos de aeração e sistema de drenagem, para retiradas  
135 de sólidos decantados.

136 Em cada tanque foram estocados 10 peixes.m<sup>-3</sup>, sendo todos pesados no momento da  
137 estocagem e considerado como peso inicial de cada lote. O cultivo teve duração total de 60  
138 dias (primeira e segunda etapas), com fornecimento de ração duas vezes ao dia (09:00-  
139 16:00h), correspondendo a 5% da biomassa estocada. As biometrias foram realizadas  
140 quinzenalmente, com a captura de todos os peixes, para mensuração de peso e comprimento,  
141 ao mesmo tempo em que se observou a higidez aparente.

142 Os peixes foram alimentados com ração comercial contendo 550 g.kg<sup>-1</sup> de proteína  
143 bruta (PB) e 90 g.kg<sup>-1</sup> de lipídeo, sendo esta dieta utilizada como ração controle, e para todos  
144 os tratamentos, as bactérias (potenciais probióticos e patógeno) foram incorporadas por meio  
145 de aspersão, na proporção de 2,0 mL de caldo, para cada 10 g de ração, ou seja,  
146 3,0 x 10<sup>10</sup> UFC.kg<sup>-1</sup> de ração.

147 Durante todo o período de cultivo foi realizada troca de água (5%) em todos os  
148 tanques, para minimizar a influência das variáveis da água, além de repor as perdas por  
149 evaporação.

150 A água foi monitorada diariamente, em relação ao pH, oxigênio dissolvido e  
151 temperatura, utilizando-se um multiparâmetro e semanalmente, foram determinados os níveis  
152 de amônia, nitrito e nitrato por meio da leitura em espectrofotômetro e a alcalinidade, através  
153 de titulação. Os parâmetros iniciais da água de povoamento foram: salinidade de 32,0,

154 alcalinidade de 152,0 mg.L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>, pH de 7,8, oxigênio acima de 4,0 mg.L<sup>-1</sup> e  
155 nitrogenados abaixo de 0,05 mg.L<sup>-1</sup>.

156

### 157 **Preparação da dieta experimental com probióticos e patógeno**

158 Bactérias com potencial probiótico, isoladas do intestino do beijupirá, que  
159 apresentaram ótimos resultados em testes “in vitro” de antagonismo a patógenos (BARROS et  
160 al., 2012), foram incorporadas à ração e testadas em cultivos experimentais. Essas bactérias  
161 foram identificadas por sua morfologia e bioquimicamente através de kits do sistema API  
162 (BioMérieux, França), tendo sido identificadas *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*,  
163 *Bacillus circulans* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

164 Para o preparo do inoculo das bactérias testadas como probiótico, os isolados foram  
165 liofilizados e, posteriormente, ativados em caldo *Lactobacillus* MRS, durante 24 horas, em  
166 estufa a 28°C, em seguida, confirmados por meio de coloração Gram. Para o inóculo do  
167 patógeno, a bactéria liofilizada foi ativada em caldo tripticase de soja (TSB) com incubação a  
168 36°C por 24 h. Passado o período de incubação, foram semeadas em placas contendo ágar de  
169 tiosulfato, citrato, bÍlis e sacarose (TCBS) e incubadas durante 24 horas, a 28°C, para  
170 recuperação de colônias viáveis. Tanto a concentração das soluções contendo as bactérias  
171 probióticas, quanto à solução contendo o *V. parahaemolyticus* ATCC 17802, foram  
172 preparadas utilizando-se a escala de Mc Farland de 0,5 (10<sup>8</sup> UFC), com confirmação em  
173 espectrofotômetro a 600 nm.

174 Após a determinação da concentração, o caldo contendo as bactérias foi misturado à  
175 ração, de forma homogênea e, em seguida, fornecida aos animais. Testes anteriores ao uso da  
176 ração com probiótico foram realizados para confirmação da fixação das bactérias, nos quais  
177 uma amostra da ração, após a mistura, foi inoculada em ágar MRS e TCBS, com posterior  
178 contagem das colônias características.

179

**180 Variáveis hematológicas e avaliação histopatológica**

181 Os animais foram coletados no local de cultivo e ainda vivos, levados ao Laboratório  
182 de Sanidade de Animais Aquáticos (LASAq) da UFRPE, sob aeração constante, onde foram  
183 anestesiados com benzocaína, para a realização do exame físico externo, a colheita de sangue  
184 e necropsia, seguindo-se os protocolos discriminados no projeto de nº 23082.008952/2010,  
185 aprovado pela Comissão de Ética e Uso Animal da UFRPE.

186 A coleta de sangue foi efetuada através da punção da veia caudal, de acordo com a  
187 metodologia descrita por Shaperclaus (1992), por meio de seringa estéril contendo solução de  
188 EDTA a 10%. Determinou-se o percentual de hematócrito, seguindo-se a técnica descrita por  
189 Goldenfarb et al. (1971) e a contagem de eritrócitos sanguíneos (RBC/ $\mu$ L) em solução de  
190 formol citrato modificada por Oliveira et al.(2008), em câmara de Neubauer, sob microscópio  
191 óptico com objetiva de 40 vezes.

192 Foram confeccionadas duas lâminas de extensões sanguíneas pelo método coloração  
193 rápida (MGGW) (TAVARES-DIAS et al., 2003), que foram usadas para contagem de  
194 leucócitos totais e trombócitos totais por estimativa, seguindo metodologia citada por Tavares-  
195 Dias e Moraes (2004). Para a contagem diferencial de leucócitos foram examinadas as  
196 extensões sanguíneas de cada peixe e obtido o percentual (contagem relativa) de cada um  
197 deles, em pelo menos 100 leucócitos contados, fazendo-se transformação em número absoluto  
198 (em  $\mu$ L).

199 Após a coleta sanguínea, os peixes foram eutanasiados para realização de necropsia,  
200 onde tinham sua cavidade celomática aberta com auxílio de pinças e bisturis para exposição  
201 dos órgãos internos e observados quanto à higidez de suas estruturas, com posterior coleta de  
202 fragmentos do coração, rim, baço, fígado e intestino para exames bacteriológicos e  
203 histológicos.

204 Os fragmentos coletados foram imediatamente imersos em solução de Davidson AFA  
205 para fixação por 24 horas. Em seguida, transferidos para solução alcoólica a 70%, quando  
206 podiam então ser manipulados para processamento histológico.

207 Os tecidos foram processados em rotina histológica, devidamente organizados em  
208 histocassetes e desidratados em série de álcool crescente de 70%, 80%, 95% e 100%;  
209 diafanizados em xilol e infiltrados com parafina liquefeita com posterior emblocamento.  
210 Posteriormente, as amostras foram cortadas a cinco micra de espessura, montados em lâminas  
211 de vidro e coradas pela hematoxilina e eosina para serem analisadas ao microscópio.

212

### 213 **Análise estatística**

214 Os dados hematológicos, após o devido processo de tabulação, foram expressos em  
215 termos de média e desvio padrão, enquanto a taxa de sobrevivência foi obtida pelo quociente  
216 entre o número de peixes ao final do cultivo e o número de peixes estocados multiplicado por  
217 100.

218 Para análise da sobrevivência final, peso final e fator de conversão alimentar foram  
219 aplicados o teste “F” de análise de variância. As médias, quando necessárias, foram  
220 comparadas utilizando-se o teste de Tukey, de acordo com Mendes (1999). Todas as análises  
221 foram baseadas ao nível de confiança de 5,0% e foram realizadas utilizando-se o programa  
222 SysEapro v 2.0.

223

## 224 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

225 Os valores médios das variáveis de qualidade de água, nos tanque de cultivo, foram de  
226  $32,0 \pm 1,0$  para salinidade, temperatura de  $25,0 \pm 2,3$  °C, pH de  $8,0 \pm 0,5$ , oxigênio dissolvido de  
227  $4,8 \pm 0,93$  mg.L<sup>-1</sup>, alcalinidade de  $138,0 \pm 10,2$  mg.L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>, nitrito  $0,06 \pm 0,03$  mg.L<sup>-1</sup> e  
228 amônia total de  $0,73 \pm 0,2$  mg.L<sup>-1</sup>, sem que apresentassem diferença estatística ( $P \geq 0,05$ ).

229 Segundo Holt et al. (2007), estes são valores de padrão aceitável para a espécie e  
230 provavelmente, não influenciaram nos tratamentos.

231 As médias das taxas de sobrevivência, de peso final e fator de conversão alimentar são  
232 apresentados na Tabela 2, onde se verifica que houve diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ) entre os  
233 tratamentos.

234

235 **Tabela 2:** Parâmetros zootécnicos do *R. canadum*, quando cultivado durante 60 dias,  
236 alimentados com bactérias probióticas e desafiados com *V. parahaemolyticus*.

Probiótico/Tratamento	Sob (%) <sup>1</sup>	Pf (g) <sup>2</sup>	FCA <sup>3</sup>
<i>Bacillus coagulans</i> (B1+)*	80,0 <sup>c 4</sup>	82,23±0,75 <sup>b</sup>	5,66±0,20 <sup>b</sup>
<i>Lactobacillus plantarum</i> (L1+)	80,0 <sup>c</sup>	83,33±1,56 <sup>b</sup>	5,78±0,50 <sup>b</sup>
<i>Bacillus circulans</i> (B2+)	90,0 <sup>b</sup>	83,00±1,43 <sup>b</sup>	5,08±0,02 <sup>b</sup>
<i>Lactococcus lactis lactis</i> (L2+)	90,0 <sup>b</sup>	91,30±0,98 <sup>b</sup>	5,08±0,11 <sup>b</sup>
Controle positivo(C+)**	0,00 <sup>d</sup>	71,12±2,02 <sup>b</sup>	7,00±0,77 <sup>c</sup>
<i>Bacillus coagulans</i> (B1-)	100,0 <sup>a</sup>	88,88±7,83 <sup>ab</sup>	4,06±0,09 <sup>a</sup>
<i>Lactobacillus plantarum</i> (L1-)	100,0 <sup>a</sup>	93,13±9,11 <sup>ab</sup>	4,17±0,57 <sup>a</sup>
<i>Bacillus circulans</i> (B2-)	100,0 <sup>a</sup>	90,00±6,89 <sup>ab</sup>	4,08±0,06 <sup>a</sup>
<i>Lactococcus lactis lactis</i> (L2-)	100,0 <sup>a</sup>	96,22±10,80 <sup>b</sup>	4,38±0,51 <sup>ab</sup>
Controle negativo (C-)	100,0 <sup>a</sup>	93,89±6,26 <sup>a</sup>	5,00±1,77 <sup>b</sup>

237 \*Em que: (+) - com aplicação e (-) - sem aplicação de *V. parahaemolyticus*, na ração;  
238 1: Sob – sobrevivência, 2: Pf – peso final, 3: FCA – fator de conversão alimentar,  
239 4: Letras diferentes entre os tratamentos indicam que houve diferença na estatística “W”  
240 ( $P < 0,05$ ). \*\* as médias de Pf e FCA, para o tratamento C(+), foram obtidas levando-se em  
241 conta, o período de povoamento até a mortalidade total.

242

243 Ao se analisar os dados de sobrevivência entre os peixes do tratamento controle e os  
244 alimentados com ração probiótica e que não foram desafiados (B1-, L1-, B2-, L2- e C-) e  
245 aqueles que foram desafiados (B1+, L1+, B2+, L2+ e C+), verificou-se nítida diferença

246 estatística, constatando-se que os víbrios interferiram na sanidade dos peixes, levando-os a  
247 óbito e que o *Bacillus circulans* (B2+) e o *Lactobacillus lactis* subsp *lactis* (L2+)  
248 minimizaram a ação do patógeno, em relação aos demais. Tal interpretação fundamenta-se na  
249 comparação dos resultados obtidos no desafio com *V. parahaemolyticus* no controle (C+),  
250 quando todos os animais morreram poucos dias após a inoculação de  $3,0 \times 10^{10}$  UFC.kg<sup>-1</sup> de  
251 ração e, alternativamente, houve sobrevivência nos grupos alimentados com bactérias  
252 probióticas.

253 Melhor sobrevivência também foi observado por diversos autores (ALY et al., 2008;  
254 SON et al. 2009 e GENG et al. 2012) ao utilizarem o *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp. e  
255 *Lactococcus* spp., em ração para peixes de diversas espécies (GHOSH et al., 2003; ALY et  
256 al., 2008; SON et al. 2009 e GENG et al. 2012).

257 Peixes que receberam o *B. coagulans*, o *B. circulans* e o *L. plantarum*, apresentaram  
258 melhor peso final quando não foram desafiados, o que demonstra que podem ser utilizados  
259 como probiótico, rotineiramente em cultivo comercial. Todavia, ao comparar os resultados  
260 quando realizado o desafio com o patógeno, verifica-se igualdade estatística entre todas as  
261 bactérias testadas, sendo o tratamento controle negativo (não recebeu o probiótico e desafio)  
262 aquele que apresentou melhor peso final, ou seja, provavelmente os probióticos melhoraram o  
263 crescimento, em peso, dos animais. Esse melhor desempenho também foi demonstrado por  
264 Ghosh et al. (2003), Aly et al. (2008), Son et al. (2009) e Geng et al. (2012), em seus estudos.

265 Alguns autores sugeriram que bactérias podem apresentar características probióticas  
266 que influenciam no crescimento, na imunidade ou em ambos (BALCÁZAR et al., 2006;  
267 SALINAS et al., 2006; IPINIGRAHI et al., 2007; ALY et al., 2008), entretanto, em diversos  
268 estudos a associação entre bactérias é a condição mais indicada para determinação de um  
269 probiótico (ALY et al., 2008).

270 Levando-se em consideração apenas as médias dos resultados obtidos neste  
271 experimento, em detrimento à comparação estatística, pode-se evidenciar uma tendência de  
272 melhor desempenho no FCA nos animais submetidos aos probióticos *Bacillus coagulans*,  
273 *Bacillus circulans*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*,  
274 sequencialmente, sem o desafio com o patógeno. Na presença do patógeno, restringindo-se à  
275 comparação dos valores das médias, pode-se indicar o *B. circulans* e o *L. lactis* subsp *lactis*  
276 como os melhores probióticos.

277 Ao comparar os dados de sobrevivência exibidos, juntamente com as médias obtidas  
278 para o FCA (Tabela 2), pode-se verificar que a aplicação das bactérias probióticas, resultou  
279 em uma melhora no peso, FCA e sobrevivência dos juvenis do beijupirá.

280 Geng et al. (2012) testaram um mix de bactérias probióticas contendo *B. subtilis*  
281 ( $7,0 \times 10^9$  UFC.g<sup>-1</sup>), *B. linqueniformis* ( $3,0 \times 10^9$  UFC.g<sup>-1</sup>), *Lactobacillus* spp.  
282 ( $5,0 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>) e *Artherobacter* spp. ( $1,0 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>), avaliando crescimento,  
283 imunidade não-específica e proteção contra *Vibrio harvey* em beijupirá, não encontraram  
284 diferença estatística na sobrevivência, nas diversas concentrações bacterianas utilizadas do  
285 probiótico. Entretanto, verificaram que a suplementação com o probiótico, minimizou o  
286 impacto da infecção pelo víbrio.

287 Na avaliação hematológica, foi verificada uma variação da contagem diferencial de  
288 leucócitos, de modo irregular. Esta variação foi mais acentuada após o desafio, como pode ser  
289 verificado pelos dados apresentados na Tabela 3. Em parte, a variação na fase pré desafio  
290 pode ter sido influenciada pelo sistema de cultivo (com recirculação de água) e pelo  
291 adensamento. Segundo Ruane et al. (2000), a exposição ao estresse pode gerar respostas  
292 fisiológicas semelhantes às que ocorrem frente aos agentes patogênicos e assim deprimir  
293 respostas de defesa nos hospedeiros.

294 **Tabela 3:** Parâmetros hematológicos do *R. canadum*, quando cultivado durante 60 dias,  
 295 alimentados com ração probiótica e desafiados com *V. parahaemolyticus*.

<b>LEUCÓCITOS TOTAIS - WBC (µL)</b>					
<b>Período/Trat</b>	Controle	<i>B. coagulans</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. circulans</i>	<i>L. lactis lactis</i>
Pré desafio	35.772±14.143	38.272±4.778	34.461±3.688	33.441±14.339	29.127±3.865
Com patógeno	41.453±14.848	41.408±6.282	35.785±5.829	48.161±8.709	44.997±19.365
Sem patógeno	32.333±8.708	39.220±5.055	36.985±7.906	51.387±9.652	45.091±19.513
<b>LINFOCITOS (µL)</b>					
<b>Período/Trat</b>	Controle	<i>B. coagulans</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. circulans</i>	<i>L. lactis lactis</i>
Pré desafio	30.268±12.735	33.685±5.661	30.107±1.831	28.889±10.415	25.361±3.030
Com patógeno	36.857±12.895	35.434±4.506	29.882±4.319	42.804±7.951	40.513±18.346
Sem patógeno	29.587±8.292	34.227±4.153	31.019±6.286	46.206±8.985	40.272±17.987
<b>MONÓCITOS (µL)</b>					
<b>Período/Trat</b>	Controle	<i>B. coagulans</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. circulans</i>	<i>L. lactis lactis</i>
Pré desafio	1.699±565	1.528±326	1.322±570	1.454±1558	1.213±462
Com patógeno	1.424±473	1.861±339	1.827±191	1.579±164	1.469±549
Sem patógeno	914±436	1.773±383	2.112±594	1.676±59	1.471±553
<b>NEUTRÓFILOS (µL)</b>					
<b>Período/Trat</b>	Controle	<i>B. coagulans</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. circulans</i>	<i>L. lactis lactis</i>
Pré desafio	3.669±1.352	2.961±612	2.982±1.807	2.895±2.392	2.434±803
Com patógeno	2.992±1.768	3.961±1.811	4.005±1.363	3.683±754	2.862±915
Sem patógeno	1.768±424	3.219±720	1.363±1.111	3.409±604	3.304±1.673
<b>BASÓFILOS (µL)</b>					
<b>Período/Trat</b>	Controle	<i>B. coagulans</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. circulans</i>	<i>L. lactis lactis</i>
Pré desafio	136±194	99±115	49±98	203±234	120±150
Com patógeno	180±156	152±264	71±123	96±166	152±163
Sem patógeno	87±151	0	0	96±166	44±76
<b>TROMBÓCITOS (µL)</b>					
<b>Período/Trat</b>	Controle	<i>B. coagulans</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. circulans</i>	<i>L. lactis lactis</i>
Pré desafio	44.926±19.437	52.256±10.097	43.894±6892	39.339±16.209	38.350±6.973
Com patógeno	42.390±17.068	49.650±14.476	50.068±10.656	67.898±22.104	49.647±15.678
Sem patógeno	33.810±3.754	40.482±4.235	43.600±6.881	52.992±11.486	40.463±228

296 <sup>1</sup>Em que, Pré desafio: média e desvio padrão (DP) dos resultados obtidos antes da fase de  
 297 desafio com patógeno; Com patógeno: média e DP dos resultados dos grupos alimentados  
 298 com probiótico e submetidos ao patógeno; Sem patógeno: média e DP dos resultados dos  
 299 grupos alimentados com probiótico e não submetidos ao patógeno *V. parahaemolyticus*, na  
 300 ração. As médias foram obtidas analisando-se três peixes por tratamento a cada biometria.  
 301

302 Após o desafio, verificou-se uma elevação no número de neutrófilos em todos os  
 303 peixes, o que é significativo da competência imunológica dos animais. Signor et al. (2010)  
 304 afirmaram que o aumento no número de neutrófilos traduz o esforço do organismo em vencer  
 305 possíveis condições patogênicas instaladas, em função da baixa resistência do organismo. A  
 306 partir desses resultados é válido inferir que o uso de probiótico melhora a resistência do  
 307 animal frente ao patógeno, verificado nos resultados do leucograma, por reduzir a proliferação  
 308 dos patógenos localizados na luz do trato digestório, impedindo que colonizem os tecidos  
 309 intestinais, com consequente bacteremia e sepsis, levando o animal a óbito.

310 Os animais que receberam *B. coagulans*, tiveram menor variação no pós-desafio, cujos  
 311 valores ficaram próximo do grupo controle. Alternativamente, os grupos alimentados com  
 312 *B. circulans*, *L. plantarum* e *L. lactis* subsp *lactis* tiveram maior variação, o que no mínimo  
 313 pode ser justificado pelas alterações microscópicas no coração, fígado e rim verificados pelas  
 314 análises histológicas.

315 Verificou-se inflamação do pericárdio e miocárdio ou proliferação dos centros  
 316 melanomacrófagos dos peixes desafiados com vário, onde os principais achados  
 317 histopatológicos, ocorridos neste período, estão discriminados na Tabela 4.

318 **Tabela 4:** Principais achados histopatológicos em órgãos do *R. canadum*, alimentados com  
 319 bactérias probióticas e desafiados com *Vibrio parahaemolyticus*.

Probiótico	Rim	Fígado	Coração	Baço
<i>Bacillus coagulans</i>	S/A <sup>1</sup>	D.B <sup>2</sup>	Pericardite	S/A
<i>Lactobacillus plantarum</i>	CMM <sup>3</sup>	D.B	Pericardite	S/A
<i>Bacillus circulans</i>	S/A	D.B	Pericardite	S/A
<i>Lactococcus lactis lactis</i>	S/A	D.B	Miocardite leve	S/A
Controle	CMM	D.B	Miocardite e Pericardite intensa	S/A

320 Em que, 1: Sem alterações, 2: Degeneração balonosa, 3: Proliferação dos centros  
 321 melanomacrófagos.

322 Estabelecer um prognóstico comparativo a partir dos resultados hematológicos  
323 exibidos na Tabela 3 constitui-se em um grande desafio, pois algumas variações, como a dos  
324 leucócitos totais, linfócitos e trombócitos devem estar relacionadas à infecção, pois  
325 sabidamente, em peixes teleósteos, estas células que possuem a capacidade de fagocitose, são  
326 rapidamente produzidas em animais imunocompetentes, circunstância que vai ao encontro dos  
327 resultados do pós desafio, quando houve aumento no número de leucócitos.

328 Em peixes teleósteos as doenças infecciosas ativam o sistema imunológico celular,  
329 alterando o percentual de células sanguíneas de defesa circulantes (BONN et al., 1990).  
330 Assim, há necessidade de identificação e quantificação de tais células visando o entendimento  
331 de sua participação nos processos inflamatórios (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004), bem  
332 como a realização de pesquisas básicas a fim de determinar qual a melhor estratégia para o  
333 uso de uma bactéria probiótica (NAYAK, 2010).

334

### 335 **CONCLUSÃO**

336 As bactérias retiradas do intestino do beijupirá, utilizadas isoladamente como  
337 probióticos, tem influência sobre a sobrevivência, o crescimento e nos índices hematológicos  
338 para peixes entre 45 e 100 g, cultivados em sistema de recirculação e desafiados com o *Vibrio*  
339 *parahaemolyticus*.

340

### 341 **AGRADECIMENTOS**

342 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela  
343 concessão da bolsa de doutorado e financiamento do projeto “Probio-Cobia” e ao Conselho  
344 Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

345

346

347 **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

348 ALY, S.M, AHMED Y.A.G, GHAREEB, A.A.A; MOHAMED, M.F. Studies on *Bacillus*  
349 *subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and  
350 resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. **Fish Shellfish**  
351 **Immunology**. v. 25, p.128-136. 2008.

352

353 BALCAZAR JL, DE BLAS I, RUIZ-ZARZUELA I, CUNNINGHAM D, VENDRELL D,  
354 MUZQUIZ JL. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary Microbiology**. v. 114,  
355 p 173-186. 2006.

356

357 BARROS, C. N; NASCIMENTO, D. L; GUIMARÃES, J. M; PEDROSA, V. F; SILVA, A.  
358 D. R e MENDES, E. S. **Bactérias com potencial probiótico isoladas do intestino do**  
359 **beijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766)**. 2012. 51 f. Dissertação (Mestrado em  
360 Recursos Pesqueiros e Aquicultura). – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife,  
361 2012.

362

363 BOON, J.H, CANNAERTS, V. M. H., AUGUSTIJN, H., MACHIELS, M.A.M,  
364 CHARLEROY, D., OLLEVIER, F. The effect of different infection levels with infective  
365 larvae of *Anguillicola crassus* on haematological parameters of european eel (*Anguilla*  
366 *anguilla*). **Aquaculture**. v. 87. p. 243-253. 1990.

367

368 FAO. **El estado mundial de la pesca y la cuicultura**. Departamento de Pesca y Acuicultura  
369 de La FAO. Organización de las naciones unidas para La agricultura y La alimentación.  
370 Roma. 223p. 2014.

371

372 FIGUEIREDO, H.C.P. Fotobacteriose em beijupirá cultivado: uma “velha” doença em uma  
373 produção “Jovem”. **Panorama da Aquicultura**, v. 125, p. 30-35. 2011.

374

- 375 GENG, X.; DONG, X. H; TAN, B. P; YANG, Q. H; CHI, S. Y; LIU, H. Y e LIU, X. Q.  
376 Effects of dietary on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance  
377 of cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture Nutrition**. v. 18, p. 48-55. 2012.
- 378
- 379 GHOSH, K., SEN, S.K. e RAY, A.K. Supplementation of an isolated fish gut bacterium,  
380 *Bacillus circulans*, in formulated diets for rohu, *Labeo rohita*, fingerlings. **Israel Journal**  
381 **Aquaculture**. Bamidgeh, v. 55, p. 13–21. 2003.
- 382
- 383 GHOSH, S., SINHA, A., SAHU, C. Dietary probiotic supplementation in growth and health  
384 of live-bearing ornamental fishes. **Aquaculture Nutrition**. v. 14, p.289–299. 2008.
- 385
- 386 GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, T.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the  
387 hematology laboratory; the microhematocrit determination. **American Journal of Clinic**  
388 **Pathology**, New York, v. 56, p. 35-39. 1971.
- 389
- 390 HOLT, G.J; FAULK, C.K; SCHWARZ, M.H. A review of the larviculture of cobia  
391 *Rachycentron canadum*, a warm water marine fish. **Aquaculture**. v. 268. p. 181-187. 2007.
- 392
- 393 IPANIGRAHI A, KIRON V, SATOH S, HIRONO I, KOBAYASHI T, SUGITA H. Immune  
394 modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon  
395 probiotic feeding. **Developmental and Comparative Immunology**. v. 31. p. 372-382.2007.
- 396
- 397 KAISER, J.B.; HOLT, G.J. **Species Profile Cobia**. Southern Regional. Aquaculture Center  
398 Publication, 7202. 6 p, 2005.
- 399
- 400 LIAO, C., HUANG, T.S., TSAI, W.S., HSUEH, C.M., CHANG, S.L., LEAÑO, E.M. Cobia  
401 culture Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Aquaculture**. v. 237,  
402 p. 155–165. 2004.
- 403

404 LIN, J. H.-Y., CHEN, T.-Y., CHEN, M.-S., CHEN, H.-E., CHOU, R.-L., CHEN T.-I., SU,  
405 M.-S., YANG, H.-L. Vaccination with three inactivated pathogens of cobia (*Rachycentron*  
406 *canadum*) stimulates protective immunity. **Aquaculture**. v. 255, p. 125–132. 2006.

407  
408 MCCARTHY, S.A., DEPAOLA, A., COOK, D.W., KAYSNER, C.A. AND HILL, W.E.  
409 Evaluation of alkaline phosphatase- and digoxigeninlabelled probes for detection of the  
410 thermolabile hemolysin (tlh) gene of *Vibrio parahaemolyticus*. **Letters in Applied**  
411 **Microbiology**. v. 28, p. 66–70. 1999.

412  
413 MENDES, P.P. **Estatística aplicada à Aquicultura**. Bagaço: Recife. 1999. 265p.

414  
415 NAYAK, S. K. Probiotics and immunity: a fish perspective. **Fish and Shellfish**  
416 **Immunology**. v. 29, p. 2-14. 2010.

417  
418 OLIVEIRA-JUNIOR, A. A.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J.L. Biochemical and  
419 hematological reference ranges for Amazon fresh water turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia:  
420 Pelomedusidae), with morphologic assessment of lood cells. **Reserch in veterinary Science**,  
421 v. 86, p. 146-151. 2008.

422  
423 RUANE, N. M., NOLAN, D. T., ROTLLANT, J., COSTELLOE, J., e WENDELAAR  
424 BONGA, S.E. Experimental exposure of rainbow trout *Oncorhyncus mykiss* to the infective  
425 stages of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* influences the physiological response to ans  
426 acute stressor. **Fish and Shellfish Immunology**. v. 10, p. 451-463. 2000.

427  
428 SALINAS I, DIAZ-ROSALES P, CUESTA A, MESEGUER J, CHABRILLON M,  
429 MORINIGO MA. Effect of heat-inactivated fish and non-fish derived probiotics on the innate  
430 immune parameters of a teleost fish (*Sparus aurata* L.). **Veterinary Immunology**  
431 **Immunopathology**. v. 111, p. 279-286. 2006.

432

- 433 SALINAS, I.; MYKLEBUST, R.; ESTEBAN, M.A.; OLSEN, R.E.; MESEGUER, J.;  
434 RINGO, E. In vitro studies of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* in Atlantic salmon  
435 (*Salmo salar*) foregut: tissue responses and evidence of protection against *Aeromonas*  
436 *salmonicida* subsp. *salmonicida* epithelial damage. **Veterinary Microbiology**. v. 128,  
437 p. 167–177. 2008.
- 438  
439 SHAPERCLAUS, W. **Fish diseases**. Rotterdam:Balkema,. v. 1. 594 p. 1992.  
440
- 441 SON, V.M., CHANG, C.C., WU, M.C., GUU, Y.K., CHIU, C.H. e CHENG, W.T. Dietary  
442 administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate  
443 immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. **Fish and**  
444 **Shellfish Immunology**., v. 26, p. 691–698. 2009.
- 445
- 446 TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto:  
447 Villimpress Complexo Gráfico, 144p. 2004.
- 448
- 449 TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S.E.C. e MORAES, F.R. Hematological characteristics of  
450 Brazilian teleosts. VII. Parameters of seven species collected in Guariba, São Paulo State,  
451 Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 29. p. 109-115. 2003.
- 452
- 453 VINE, N.G.; LEUKES, W.D.; KAISER, H. Probiotics in marine larviculture. **FEMS**  
454 **Microbiological Reviews**. v. 30, p. 404–427. 2006.
- 455
- 456 XIE, Z.Y., HU, C. Q.,CHEN, ZHANG, L.P., REN, C.H. Investigation of seven *Vibrio*  
457 virulence genes among *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* strains from the  
458 coastal mariculture systems in Guangdong, China. **Letters in Applied Microbiology**. v. 41,  
459 p. 202–207. 2005.

## 4. 2. 1 – Normas da revista CAATINGA

### INSTRUÇÕES AOS AUTORES

#### 1. Política Editorial

A Revista Caatinga, publicada pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPPG) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), apresenta periodicidade trimestral e destina-se à publicação de artigos científicos e notas científicas envolvendo as áreas de ciências agrárias e recursos naturais.

Os artigos podem ser enviados e/ou publicados em Português, Inglês ou Espanhol, e devem ser originais, ainda não relatados ou submetidos à publicação em outro periódico ou veículo de divulgação. Em caso de autores não nativos destas línguas, o artigo deverá ser editado por uma empresa prestadora deste serviço e o comprovante enviado para a sede da Revista Caatinga no ato da submissão através do campo “Transferir Documento Suplementares”.

Os trabalhos aprovados preliminarmente serão enviados a, pelo menos, dois revisores da área e publicados, somente, se aprovados pelos revisores e pelo corpo editorial. A publicação dos artigos será baseada na originalidade, qualidade e mérito científico, cabendo ao comitê editorial a decisão final do aceite. O sigilo de identidade dos autores e revisores será mantido durante todo o processo. A administração da revista tomará o cuidado para que os revisores de cada artigo sejam, obrigatoriamente, de instituições distintas daquela de origem dos autores. Artigo que apresentar mais de cinco autores não terá a sua submissão aceita pela Revista Caatinga, salvo algumas condições especiais. Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores *a posteriori*.

#### 2. Custo de publicação

Será de **R\$ 30,00 (trinta reais) por página editorada no formato final**. No ato da submissão é **requerido o depósito de R\$ 80,00 (oitenta reais) não reembolsáveis**, valor este que será deduzido no custo final do artigo editorado e aceito para publicação. A cópia digitalizada do comprovante de depósito ou transferência deve ser encaminhada ao e-mail da Revista Caatinga (**caatinga@ufersa.edu.br**), informando o ID (quatro primeiros números), gerado no momento da submissão.

Caso o trabalho tenha impressão colorida deverá ser pago um **adicional de R\$ 80,00 (oitenta reais) por página**. Os depósitos ou transferências deverão ser efetuados em nome de:

**FUNDAÇÃO G. DUQUE (CNPJ: 08.350.241/0001-72)****CAIXA ECONÔMICA FEDERAL: AGÊNCIA: 1013; CONTA CORRENTE: 229-0;  
OPERAÇÃO: 003**

Os dados, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências bibliográficas, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). Contudo o Editor, com assistência dos Consultores "*ad hoc*", Comitê Editorial e do Conselho Científico, reservar-se-á o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Todos os artigos aprovados e publicados por esse periódico desde a sua fundação em 1976 estão disponíveis no site <http://caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>. A distribuição da forma impressa é de responsabilidade da Biblioteca Orlando Teixeira da Universidade Federal Rural do Semi-Árido sendo realizada por meio de permuta com bibliotecas brasileiras e do exterior.

Na submissão on line atentar para os seguintes itens:

1. A concordância com a declaração de responsabilidade de direitos autorais que deverá ser assinada pelos respectivos autores e enviada através do campo "Transferir Documentos Suplementares";
2. Todos os autores devem estar, obrigatoriamente, cadastrados no sistema, onde serão informados seus endereços, instituições etc.
3. A primeira versão do artigo deve omitir os nomes dos autores com suas respectivas notas de rodapé, bem como a nota de rodapé do título;
4. Somente, na versão final o artigo deve conter o nome de todos os autores com identificação em nota de rodapé, inclusive a do título;
5. Identificação, por meio de asterisco, do autor correspondente com endereço completo.

**3. Organização do Trabalho Científico**

**Digitação:** o texto deve ser composto em programa Word (DOC ou RTF) ou compatível e os gráficos em programas compatíveis com o Windows, como Excel, e formato de imagens: Figuras (GIF) e Fotos (JPEG). Deve ter no máximo de 20 páginas, A4, digitado em espaço 1,5, fonte Times New Roman, estilo normal, tamanho doze e parágrafo recuado por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. Páginas e linhas devem ser numeradas; os números de páginas devem ser colocados na margem inferior, à direita e as linhas numeradas de forma contínua. Se forem necessárias outras orientações, entre em contato com o Comitê Editorial ou consulte o último número da Revista Caatinga. As notas devem apresentar até 12 páginas,

incluindo tabelas e figuras. As revisões são publicadas a convite da Revista. O manuscrito não deverá ultrapassar 2,0 MB.

**Estrutura:** o artigo científico deverá ser organizado em título, nome do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos (opcional), e referências.

**Título:** deve ser escrito em maiúsculo, negrito, centralizado na página, no **máximo com 15 palavras**, não deve ter subtítulo e abreviações. Com a chamada de rodapé numérica, extraída do título, devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraído de tese/dissertação) e referências às instituições colaboradoras. O nome científico deve ser indicado no título apenas se a espécie for desconhecida.

Os títulos das demais seções da estrutura (resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos e referências) deverão ser escritos em letra maiúscula, negrito e justificado à esquerda.

**Autor (es):** nomes completos (sem abreviaturas), em letra maiúscula, um após o outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como nota de rodapé na primeira página, indicar, para cada autor, afiliação completa (departamento, centro, instituição, cidade, país), endereço completo e e-mail do autor correspondente. Este deve ser indicado por um “\*”. Só serão aceitos, no máximo, cinco autores. Caso ultrapasse esse limite, os autores precisam comprovar que a pesquisa foi desenvolvida em regiões diferentes.

**Na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé com os endereços deverão ser omitidos.**

Para a inserção do(s) nome(s) do(s) autor(es) e do(s) endereço(s) na **versão final do artigo** deve observar o padrão no último número da Revista Caatinga (<http://caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>).

**Resumo e Abstract:** no **mínimo 100** e no **máximo 250 palavras**.

**Palavras-chave e Keywords:** em negrito, com a primeira letra maiúscula. Devem ter, no mínimo, três e, no máximo, cinco palavras, não constantes no Título/Title e separadas por ponto (consultar modelo de artigo).

**Obs.** Em se tratando de artigo escrito em idioma estrangeiro (Inglês ou Espanhol), o título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português, mas com a sequência alterada, vindo primeiro no idioma estrangeiro.

**Introdução:** no máximo, **550 palavras**, contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa.

**Citações de autores no texto:** devem ser observadas as normas da ABNT, NBR 10520 de agosto/2002.

Ex: Torres (2008) ou (TORRES, 2008); com dois autores, usar Torres e Marcos Filho (2002) ou (TORRES; MARCOS FILHO, 2002); com mais de três autores, usar Torres et al. (2002) ou (TORRES et al., 2002).

**Tabelas:** serão numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. **Não usar linhas verticais.** As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho. Recomenda-se que as tabelas apresentem 8,2 cm de largura, não sendo superior a 17 cm (consulte o modelo de artigo), acessando a página da Revista Caatinga (<http://periodico.caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>).

**Figuras:** gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de **Figura** sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. A resolução deve ter qualidade máxima com pelo menos 300 dpi. As figuras devem apresentar 8,5 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. A fonte empregada deve ser a Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. As linhas dos eixos devem apresentar uma espessura de 1,5 mm de cor preta. A Revista Caatinga reserva-se ao direito de não aceitar

tabelas e/ou figuras com o papel na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. **Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após à sua primeira citação.**

**Equações:** devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. As equações devem apresentar o seguinte padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

Estas definições são encontradas no editor de equação no Word.

**Agradecimentos:** logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, indicando, de forma clara, as razões pelas quais os faz.

**Referências:** devem ser digitadas em espaço 1,5 cm e separadas entre si pelo mesmo espaço (1,5 cm). Precisam ser apresentadas em ordem alfabética de autores, Justificar (Ctrl + J) - NBR 6023 de agosto/2002 da ABNT. **UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.**

O título do periódico não deve ser abreviado e recomenda-se um total de 20 a 30 referências.

**EVITE CITAR RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS E PUBLICADOS EM CONGRESSOS E SIMILARES.**

**Exemplos citando diferentes documentos:**

**a) Artigos de Periódicos:**

**Até 3 (três) autores**

TORRES, S. B.; PAIVA, E. P. PEDRO, A. R. Teste de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de jiló. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 0, n. 0, p. 00-00, 2010.

**Acima de 3 (três) autores**

BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora* (Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

**Grau de parentesco**

HOLANDA NETO, J. P. **Método de enxertia em cajueiro-anão-precoce sob condições de campo em Mossoró-RN**. 1995. 26 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 1995.

COSTA SOBRINHO, João da Silva. Cultura do melão. **Cuiabá**: Prefeitura de Cuiabá, 2005.

\*Orientações utilizáveis para os mais variados formatos de documentos.

O nome do **local (cidade) de publicação** deve ser indicado tal como figura no documento.

COSTA, J. **Marcas do passado**. Curitiba: UEL, 1995. 530 p.

OLIVEIRA, A. I.; LEONARDOS, O. H. **Geologia do Brasil**. 3. ed. Mossoró: ESAM, 1978. 813 p. (Coleção mossoroense, 72).

No caso dos **homônimos de cidades**, acrescenta-se o nome do estado, do país etc.

Viçosa, AL; Viçosa, MG; Viçosa, RJ; Viçosa, RN

**Exemplo:**

BERGER, P. G. et al. Peletização de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com carbonato de cálcio, rizóbio e molibdênio. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 42, n. 243, p. 562-574, 1995.

Quando houver **mais de um local** para uma só editora, indica-se o primeiro ou o mais destacado.

SWOKOWSKI, E. W.; FLORES, V. R. L. F.; MORENO, M. Q. **Cálculo de geometria analítica**. Tradução de Alfredo Alves de Faria. 2. ed. São Paulo: Makron Books do Brasil, 1994. 2 v. **Nota – Na obra**: São Paulo – Rio de Janeiro – Lisboa – Buenos Aires – Guatemala – México – New York – Santiago

**i) Documento cartográfico:**

INSTITUTO GEOGRÁFICO E CARTOGRÁFICO (São Paulo, SP). **Regiões de governo do Estado de São Paulo**. São Paulo, 1994. 1 atlas. Escala 1:2.000.

**J) Em meio eletrônico (CD e Internet):**

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. In: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. **SNPC – Lista de Cultivares protegidas**. Disponível em: <<http://agricultura.gov.br/scpn/list/200.htm>>. Acesso em: 08 set. 2008.

GOMES, C. C. **Como controlar formigas de forma alternativas**. Disponível em: <<http://www.agrisustentavel.com/ta/formigas.htm>>. Acesso em: 07 jun. 2004.

<b>Unidades e símbolos do Sistema Internacional adotados pela Revista Caatinga</b>			
<b>Grandezas básicas</b>	<b>Unidades</b>	<b>Símbolos</b>	<b>Exemplos</b>
Comprimento	metro		M
Massa quilograma	quilograma		kg
Tempo	segundo		S
Corrente elétrica	amper		A
Temperatura termodinâmica	Kelvin		K
Quantidade de substância	mol		mol

**Unidades derivadas**

Velocidade	---	m s-1	343 m s-1
Aceleração	---	m s-2	9,8 m s-2
Volume	Metro cúbico, litro	M3, L*	1 m <sup>3</sup> , 1 000 L*
Frequência	Hertz	Hz	10 Hz
Massa específica	---	Kg m-3	1.000 kg m-3
Força	newton	N	15 N
Pressão	pascal	pa	1,013.105 Pa
Energia	joule	J	4 J
Potência	watt	W	500 W
Calor específico	---	J (kg 0C)-1	4186 J (kg 0C)-1
Calor latente	---	J kg-1	2,26.106 J kg-1
Carga elétrica	coulomb	C	1 C
Potencial elétrico	volt	V	25 V
Resistência elétrica	ohm	Ω	29Ω
Intensidade de energia	Watts/metros quadrado	W m-2	1.372 W m-2
Concentração	Mol/metro cúbico	Mol m-3	500 mol m-3
Condutância elétrica	siemens	S	300 S
Condutividade elétrica	desiemens/metro	dS m-1	5 dS m-1
Temperatura	Grau Celsius	0C	25 0C
Ângulo	Grau	0	300
Porcentagem	---	%	45%

Números mencionados em seqüência devem ser separados por **ponto e vírgula** (;). Ex: 2,5; 4,8; 5,3

#### **4. Observações pertinentes - Revista Caatinga**

##### **a) Referente ao trabalho:**

1. O trabalho é original?
2. O trabalho representa uma contribuição científica para a área de Ciências Agrárias?
3. O trabalho está sendo enviado com exclusividade para a Revista Caatinga?

##### **b) Referente à formatação:**

1. O trabalho pronto para ser submetido online está omitindo os nomes dos autores?
2. O trabalho contém no máximo 20 páginas, está no formato A4, digitado em espaço 1,5 cm; fonte Times New Roman, tamanho 12, incluindo o título?
3. As margens foram colocadas a 2,5 cm, a numeração de páginas foi colocada na margem inferior, à direita e as linhas foram numeradas de forma contínua?
4. O recuo do parágrafo de 1 cm foi definido na formatação do parágrafo? Lembre-se que a revista não aceita recuo de parágrafo usando a tecla “TAB” ou a “barra de espaço”.
5. A estrutura do trabalho está de acordo com as normas, ou seja, segue a seguinte ordem: título, autor(es), resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências?
6. O título contém no máximo 15 palavras?
7. O resumo bem como o abstract apresentam no máximo 250 palavras?
8. As palavras-chave contêm entre três e cinco termos, iniciam com letra maiúscula e separadas por ponto?
9. A introdução contém citações atuais que apresentam relação com o assunto abordado na pesquisa e apresenta, no máximo, 550 palavras?
10. As citações apresentadas na introdução foram empregadas para fundamentar a discussão dos resultados?
11. As citações estão de acordo com as normas da revista?
12. As tabelas e figuras estão formatadas de acordo com as normas da revista e estão inseridas logo em seguida à sua primeira citação? Lembre-se, não é permitido usar “enter” nas células que compõem a(s) tabela(s).
13. A(s) tabela(s), se existente, está no formato retrato?
14. A(s) figura(s) apresenta qualidade máxima com pelo menos 300 dpi?
15. As unidades e símbolos utilizados no seu trabalho se encontram dentro das normas do Sistema Internacional adotado pela Revista Caatinga?

16. Os números estão separados por ponto e vírgula? Ex: 0,0; 2,0; 3,5; 4,0
17. As unidades estão separadas do número por um espaço? Ex: 5 m; 18 km; Exceção: 40%; 15%.
18. O seu trabalho apresenta entre 20 e 30 referências sendo 60% destas publicadas com menos de 10 anos em periódicos indexados?
19. Todas as referências estão citadas ao longo do texto?
20. Todas as referências citadas ao longo do texto estão corretamente descritas, conforme as normas da revista, e aparecem listadas?

**c) Demais observações:**

1. Caso as normas da revista não forem seguidas rigorosamente, seu trabalho não irá tramitar. Portanto, é melhor retardar o envio por mais alguns dias e conferir todas as normas. Recomenda-se consultar sempre o último número da Revista Caatinga (<http://periodico.caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>), isso poderá lhe ajudar a esclarecer algumas dúvidas.
2. Procure sempre acompanhar a situação de seu trabalho pela página da revista (<http://periodico.caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>).
- 3) Esta lista de verificação não substitui a revisão técnica da Revista Caatinga, a qual todos os artigos enviados serão submetidos.
- 4) Os artigos serão publicados conforme a ordem de aprovação.