

Relatório PD-I

Use of Agro-industrial Waste in Aquaculture: Effects on Innate Immune
Responses and Bacterial Resistance in Tilapia

Pós-doutorando: Fábio Sabbadin Zanuzzo

Supervisor: Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi

Período: 01/04/2021 a 01/06/2023

Resumo da Proposta original:

A intensificação da produção agrícola e o consequente aumento do processamento de alimentos têm gerado grandes volumes de resíduos agroindustriais, com potencial de aproveitamento como ingredientes alternativos na nutrição animal. Na aquicultura, especialmente em espécies onívoras como a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), esses resíduos podem substituir ingredientes tradicionais, reduzindo custos (que representam cerca de 70% do custo total de produção) e minimizando impactos ambientais. O objetivo deste projeto será avaliar os efeitos da inclusão de resíduos agroindustriais de maçã, uva e acerola na dieta de tilápias sobre o desempenho de respostas imunes inatas e a resistência a infecções bacterianas por *Aeromonas hydrophila*. Juvenis de tilápia serão alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão desses resíduos por 30 dias, para avaliação de parâmetros hematológicos, atividade do sistema complemento, produção de espécies reativas de oxigênio, atividade de lisozima e expressão de genes relacionados à resposta imune (il1b, il6, tnf- α e tlr-7). Após o período de alimentação, os peixes serão desafiados com *A. hydrophila* para verificar a resistência às infecções. Os resultados esperados incluem a identificação de resíduos agroindustriais com potencial imunomodulador, contribuindo para a redução do uso de antibióticos e para o desenvolvimento de dietas funcionais sustentáveis na piscicultura.

Palavras-chave: tilapicultura, imunologia de peixes, nutrição funcional.

Abstract

The intensification of agriculture and the subsequent increase in food processing have generated large amounts of agro-industrial by-products, which can serve as alternative ingredients in animal feed. In aquaculture, particularly for omnivorous species such as Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), these by-products can partially replace conventional feed ingredients, reducing costs (which account for approximately 70% of production expenses) and mitigating environmental impacts. The aim of this project is to evaluate the effects of dietary inclusion of apple, grape, and Barbados cherry by-products on innate immune responses and bacterial resistance in Nile tilapia. Juveniles will be fed experimental diets for 30 days, after which hematological parameters, complement activity, reactive oxygen species production, lysozyme activity, and the expression of immune-related genes (*il1b*, *il6*, *tnf-α*, and *tlr-7*) will be assessed. Subsequently, fish will be challenged with *Aeromonas hydrophila* to determine resistance to bacterial infection. The expected outcomes include identifying agro-industrial by-products with immunomodulatory potential, contributing to reduced antibiotic use and the development of sustainable functional feeds for aquaculture.

Keywords: Nile tilapia, fish immunology, functional nutrition.

1. Introdução:

A aquicultura moderna enfrenta o desafio de conciliar alta produtividade com sustentabilidade, sendo a nutrição um dos principais fatores limitantes para a expansão do setor. Ingredientes tradicionais, como farinha e óleo de peixe, apresentam custos elevados e dependem de recursos naturais finitos, o que reforça a necessidade de fontes alternativas de proteína e energia (Wadhwa & Bakshi, 2016). Nesse contexto, resíduos agroindustriais, oriundos principalmente da fruticultura e do processamento vegetal, surgem como alternativas viáveis, economicamente acessíveis e ambientalmente sustentáveis, reduzindo o descarte inadequado e agregando valor à cadeia produtiva (Bali et al., 2016; Pardo et al., 2016).

Além dos aspectos nutricionais, a saúde dos peixes em sistemas intensivos depende fortemente de estratégias que fortaleçam o sistema imunológico, reduzindo a ocorrência de doenças infecciosas e o uso de antibióticos (Urbinati et al., 2020). A nutrição funcional, por meio da inclusão de ingredientes com propriedades imunomoduladoras, tem ganhado destaque na aquicultura. Compostos bioativos presentes em resíduos agroindustriais, como polifenóis, fibras solúveis e β -glucanos, podem modular respostas imunes inatas, melhorar a barreira intestinal e aumentar a resistência a patógenos (Dalmo & Bøgwald, 2008; Petit & Wiegertjes, 2016).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), espécie onívora e uma das mais produzidas mundialmente, representa um modelo ideal para testar essas estratégias, dada sua capacidade de utilizar eficientemente proteínas vegetais e sua relevância econômica para a aquicultura brasileira (PEIXE BR, 2020). Avaliar os efeitos imunológicos de resíduos agroindustriais em tilápias é, portanto, essencial para o desenvolvimento de dietas funcionais que conciliem desempenho zootécnico, saúde animal e sustentabilidade ambiental.

2. Produção Científica e Atividades Realizadas durante o Pós-Doutorado

Durante o período do pós-doutorado, foram desenvolvidas diversas atividades acadêmicas e científicas, resultando na produção de artigos científicos e contribuições relevantes para a área de pesquisa. A seguir, apresento um resumo das principais realizações durante esse período.

Durante o período do pós-doutorado, foram publicados cinco artigos nos quais a instituição Caunesp foi afiliada à minha autoria, ou seja, associada ao pós-doutorado (conforme

detalhado no item 1 abaixo). Além disso, submetemos um artigo à revista Fish & Shellfish Immunology. Destes artigos, dois deles tem a participação do supervisor de alunos de doutorado do laboratório. Além das contribuições em forma de artigos, também ministrei uma disciplina durante esse período (detalhes no item 2 abaixo).

Infelizmente, o projeto intitulado "Use of Agro-industrial Waste in Aquaculture: Effects on Innate Immune Responses and Bacterial Resistance in Tilapia" não seguiu conforme o esperado devido às restrições de recursos, impossibilitando sua execução. No entanto, durante esse período, diversos outros estudos foram conduzidos. Destaco o estudo "Temperature Affects the Dietary β -Glucan Effects and Dosage in Nile Tilapia", no qual sou autor sênior.

Dessa forma, considerando a significativa produção científica gerada nesse período, caracterizamos o estágio de pós-doutorado como altamente produtivo e extremamente benéfico.

2.1. Produção científica gerada as quais o Caunesp foi adicionado como instituicao afiliada a minha autoria

Artigos publicados em periódicos internacionais

Dietary inulin modulated the cortisol response and increased the protection against pathogens in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Periódico: Aquaculture Research

Autores: Cristiane Meldau de Campos, **Fabio Sabaddin Zanuzzo**, Rodrigo Yukihiro Gimbo, Gisele Cristina Favero, Michelly Pereira Soares, Fabiana Pilarski¹, Elisabeth Criscuolo Urbinati

Temperature has considerable effects on plasma and muscle antibiotic concentrations in Atlantic salmon (*Salmo salar*)

Periódico: Aquaculture

Autores: **Fabio S. Zanuzzo**, Ellen de Fátima C. Peroni, Rebeccah M. Sandrelli, Sophie St-Hilaire, Nicole O'Brien, Anthony K. Gamperl

The impact of catch-and-release on feeding responses and aggressive behavior in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Periódico: Marine and Freshwater Behaviour and Physiology

Autores: Bruno Camargo-dos-Santos, Vanessa Stramantinoli Rossi, Bruno Bastos Gonçalves, Juliane de Abreu Campos Machado Leutz, Percilia Cardoso Giaquinto, **Fábio Sabbadin Zanuzzo**

Expression of Interleukin-1 β protein *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* salmonid models

Periódico: Development and Comparative Immunology

Autores: Aaron P. Frenette, Tania Rodríguez-Ramos, **Fábio Zanuzzo**, Devyn Ramsay, Shawna L. Semple, Cheryl Soulliere, Tania Rodríguez-Cornejo, George Heath, Emily McKenzie, Jack Iwanczyk, Mark Bruder, Marc G. Aucoin, A. Kurt Gamperl, Brian Dixon

Dietary β -glucan ameliorates metabolic stress caused by a high dietary carbohydrate level in Nile tilapia.

Periódico: Aquaculture

Autores: Thaise Mota Satiro, Gabriela Castellani Carli, João Paulo de Arruda Amorim, João Fernando Albers Koch, **Fábio Sabbadin Zanuzzo**, Leonardo Susumu Takahashi

Artigos submetidos

The dietary dosage of β -glucan for Nile tilapia should be adjusted according to the temperature

Periódico: Fish and Shellfish Immunology

Autores: Thaise Mota Satiro, João Fernando Albers Koch, **Fábio Sabbadin Zanuzzo**, Leonardo Susumu Takahashi

2.2. Disciplina ministrada

A disciplina de Imunologia e Saúde de Peixes foi ministrada online entre o período de 5 de julho a 13 de julho de 2021. O cronograma está descrito abaixo. Após o término da disciplina os alunos preencheram um formulário de feedback e avaliação da disciplina, o qual foi muito positivo com nota final de 9,5 (de 0 a 10) e nível de satisfação de 88.9%.

Responsável: Dr. Fábio Sabbadin Zanuzzo

Colaborador: Prof. Dr. Leonardo Susumo Takahashi

Carga didática: 45 h (teórica) 15 h (prática)

Duração: semanal

Número de créditos: 04

Nível: Mestrado e Doutorado

Número de alunos: 25

Cronograma

Segunda-Feira (5 de julho)	Atividade
9:00 – 9:30	Apresentação do Curso e dúvidas
9:30 – 10:00	Conceitos Gerais/Introdução
10:00 - 10:20	Intervalo + dúvidas
10:20 – 11:00	Componentes + Ontogenia
11:00 – 11:20	Intervalo + dúvidas
11:20 – 12:00	Aula Prática – Órgãos e células
Intervalo Almoço	
14:00 – 14:40	Imunidade inespecífica I - Introdução e Mecanismos de reconhecimento
14:40 – 15:00	Intervalo + dúvidas
15:00 – 15:40	Imunidade inespecífica II – Fagocitose
15:40 – 16:00	Intervalo + dúvidas
16:00 – 16:40	Imunidade inespecífica III – Humoral e Respostas Inflamatória
16:40 – 17:00	Dúvidas

Terça-feira (6 de julho)	Atividade
9:00 – 9:40	Antígenos e Anticorpo (Imunoglobulina)
9:40 – 10:00	Intervalo + dúvidas
10:00 - 10:40	MHC
10:40 – 11:00	Intervalo + dúvidas
11:00 – 11:40	Mecanismo de Defesa Específico em Peixes
Intervalo Almoço	
14:00 – 14:40	Defesa mediada por células (Linfócitos T)
14:40 – 15:00	Intervalo + dúvidas
15:00 – 15:40	Resposta humoral específica (Linfócito B)
15:40 – 16:00	Intervalo + dúvidas
16:00 – 16:40	Vacinação / Princípios das técnicas imunológicas
16:40 – 17:00	Distribuição seminários

Segunda-Feira (12 de julho)	Atividade
9:00 – 10:00	Bloco 1 Seminários (3 apresentações)
10:00 – 11:00	Palestra Internacional – Prof. Brian Dixon
11:00 – 11:20	Intervalo + discussão
11:20 – 12:20	Bloco 2 Seminários (3 apresentações)
Intervalo Almoço	
14:00 – 15:00	Bloco 3 Seminários (3 apresentações)
15:00 – 15:20	Intervalo + discussão
15:20 – 16:20	Bloco 4 Seminários (3 apresentações)
16:20 – 16:40	Intervalo + discussão
16:40 – 17:40	Bloco 5 Seminários (3 apresentações)

Terça-feira (13 de julho)	Atividade
9:00 – 10:30	Palestra Biorigin - Imunoestimulantes
10:30 – 11:00	Intervalo + discussão
11:00 – 12:00	Bloco 6 Seminários (3 apresentações)
Intervalo Almoço	
14:00 – 15:00	Bloco 7 Seminários (3 apresentações)
15:00 – 15:20	Intervalo + discussão
15:20 – 16:40	Bloco 8 Seminários (3 apresentações)
16:40 – 17:00	Encerramento, bate-papo e happy hour online

2.3. Outras atividade acadêmicas realizadas durante o período do estágio

Special Issue #1

Periódico: Animals

Special Issue: Immunity Enhancement Technology in Fish Aquaculture

Guest Editor: Dr. Fábio Sabbadin Zanuzzo

Affiliation: Aquaculture Center, São Paulo State University, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, Jaboticabal, SP, Brazil, 14884-900.

Co- Guest Editor: Dr. Javier Santander

Affiliation: Department of Ocean Sciences, Memorial University, St. John's, NL. Canada. A1C 5S7.

Co- Guest Editor: Dr. Aaron Frenette

Affiliation: Department of Biology, University of Waterloo, Waterloo, ON, Canada. N2L 3G1

Summary:

Aquaculture has emerged as a solution to meet the increasing demand for finfish and seafood products globally. Indeed, this industry has experienced significant economic growth over the last few decades and represents the fastest growing food-producing sector in the world. Nevertheless, the aquaculture industry faces several challenges that may undermine its sustainable growth and food security. Among the numerous challenges limiting aquaculture production, infectious disease agents constitute the greatest concern, as they contribute to

multibillion-dollar losses annually through compromised production and expensive treatment/prophylaxis methods. Additionally, disease susceptibility has increased because of over-intensification and challenges associated with climate change. In this context, strategies to enhance fish immunity have been important tools for minimizing disease risk across all types of fish production systems. With this background, this Special Issue aims to curate strategies and technologies relating to the enhancement of fish immunity including, but not limited to, development of genetically resistant stocks, trained immunity, nonspecific immunostimulants, vaccines (e.g., multivalent vaccines/adjuvants), probiotics, prebiotics, medicinal plant products, and tools for better assessment of immune function (e.g., novel immunological methods or recent technical advances). Reviews which aim to discern bottlenecks and offer perspective on future directions in the field are also welcome.

Special Issue #2

Periódico: Frontiers in Immunology

Special Issue: Physiology of South American Fishes

Guest Editor: Gustavo Moraes Ramos Valladão

Professor Adjunto I - Universidade Nilton Lins

Co-Guest Editor: Dr. Fábio Sabbadin Zanuzzo

Co- Guest Editor: Bernardo Baldisserotto

Co- Guest Editor: Jefferson Aguinaga

Summary:

The special collection "Physiology of South American Fishes" will mainly involve articles with respect to Fish Physiology and its interaction with the environment (i.e., natural, or artificial). The focus will be given to research approaching the physiology of fishes originated from South America involving biological, ecological, and economic aspects. South American continent is known for its vast biodiversity, which includes thousands of fish species in various environmental conditions presenting countless physiological adaptations that are poorly known or even unknown. It is also known that environmental disasters, mainly favored by human action, can negatively influence the habitat of these animals, causing significant changes that

impact various physiological aspects, and may even lead to extinction of species. In addition, fishes from South America play an important role in feeding the population in developing countries, so they deserve in-depth research.

Organizador de Palestra Internacional no Caunesp

Fish Immunology: From Basic Science to Aquaculture Application.

Dr Brian Dixon, Full Professor, Department of Biology, University of Waterloo

Professor Brian Dixon carries out research in fish immunology and is a world expert on the environmental effects on fish immune systems. His research has been used to provide insights into mammalian immune systems as well as understand the role of climate change on fish populations and improve fish health in aquaculture environments. Professor Dixon was the first researcher to isolate an expressed MHC gene from fish and produced the antibodies that allowed the first demonstration that they are present on the surface of fish cells.

- Canada Research Chair in Fish and Environmental Immunology
- Co-Editor in chief Fish and Shellfish Immunological Reports

Organizador de Palestra Nacional no Caunesp

Palestra Biorigin - Imunoestimulantes e Feed Aditivos Aplicados à Aquicultura

Dr. João Fernando Albers Koch, Gerente Global de Produtos Biorigin.

Editor de periódico internacional

- Membro do corpo editorial da Frontiers in Aquaculture, Associate Editor, Sections Disease and Health Management.

3. Comentarios do supervisor do estágio de pós-doutorado

O projeto originalmente aprovado: "Use of Agro-industrial Waste in Aquaculture: Effects on Innate Immune Responses and Bacterial Resistance in Tilapia", que integrava um projeto realizado no âmbito do Programa CAPES-Print da Unesp, não pode ser executado na íntegra, em razão de restrições de recursos financeiros. Por outro lado, o pós-doutorando direcionou seus

esforços em atividades correlatas, sempre mantendo alinhamento com a linha de pesquisa em imunologia e nutrição de peixes, conforme previsto no Art. 5º e 12 da Resolução 91/2017, que permitem ajustes desde que justificados.

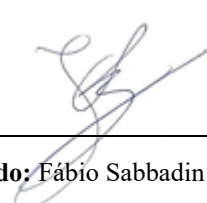
Nesse sentido, em termos de produção, o pos-doutorando publicou cinco artigos com afiliação institucional ao CAUNESP e submeteu mais um artigo à Fish & Shellfish Immunology, sempre integrando diretamente ou indiretamente alunos do grupo de pesquisa, promovendo o treinamento desses alunos da redação científica. Adicionalmente, participou como Guest Editor em dois Special Issues (Animals e Frontiers in Immunology) e como membro do corpo editorial da Frontiers in Aquaculture, demonstrando relevância científica e contribuição institucional.

O pós-doutorando ministrou disciplina no Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Caunesp, participou de eventos de extensão, organizou palestras nacionais e internacionais no CAUNESP e atuou como palestrante e organizador de eventos de imunologia de peixes, comprovando sua participação na formação de recursos humanos.

Diante do exposto, considero que os objetivos do Programa de Pós-doutorado da Unesp (Resolução Unesp nº 91/2017) foram plenamente alcançados, que a capacitação do pós-doutorando como pesquisador e docente foi realizada com sucesso e que as normas da Resolução Unesp nº 91/2017 foram totalmente atendidas.

4. Referências

- Bali, V. et al. (2016). Critical Reviews in Biotechnology, 36, 204-214.
Dalmo, R.A., & Bøgvold, J. (2008). Fish & Shellfish Immunology, 25, 384-396.
Pardo, G. et al. (2016). Animal Production Science, 56, 646-654.
Petit, J., & Wiegertjes, G.F. (2016). Developmental & Comparative Immunology, 64, 93-102.
Urbinati, E.C. et al. (2020). In Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish.
Wadhwa, M., & Bakshi, M.P.S. (2016). In Protein Byproducts: Academic Press.
PEIXE BR (2020). Anuário Brasileiro da Piscicultura.



Pós-doutorando: Fábio Sabbadin Zanuzzo

Supervisor: Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi