

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/02/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Expressão de genes imunes em tambaquis  
(*Colossoma macropomum*) desafiados com  
*Flavobacterium oreochromis***

**Carolina de Souza Pereira**

JABOTICABAL, SP

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Expressão de genes imunes em tambaquis  
(*Colossoma macropomum*) desafiados com  
*Flavobacterium oreochromis***

**Carolina de Souza Pereira**

**Orientador: Dr. Diogo Teruo Hashimoto**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

JABOTICABAL, SP

2024

P436e Pereira, Carolina de Souza  
Expressão de genes imunes em tambaquis (*Colossoma macropomum*) desafiados com *Flavobacterium oreochromis* / Carolina de Souza Pereira. -- Jaboticabal, 2024  
53 f. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal  
Orientador: Diogo Teruo Hashimoto  
Coorientadora: Silvia Umeda Gallani

1. Desafio bacteriano. 2. Imunogenética. 3. Peixe nativo. 4. RNA-seq. I. Título.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** *Expressão de genes imunes em tambaquis (*Colossoma macropomum*)  
desafiados com *Flavobacterium oreochromis**

**AUTORA:** CAROLINA DE SOUZA PEREIRA

**ORIENTADOR:** DIOGO TERUO HASHIMOTO

**COORDENADORA:** SÍLVIA UMEDA GALLANI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. DIOGO TERUO HASHIMOTO (Participação Presencial)  
Laboratório de Genética / Centro de Aquicultura da UNESP, CAUNESP, Jaboticabal-SP



Prof. Dr. JEFFERSON YUNIS AGUINAGA (Participação Virtual)  
Laboratório de Patobiología Acuática / Instituto del Mar del Perú



Prof. Dr. INÁCIO MATEUS ASSANE (Participação Virtual)  
. / Faculdade de Ciências Agrárias da UniZambeze

Jaboticabal, 23 de fevereiro de 2024

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre ter atendido as minhas preces e ter me dado força para suportar muitos momentos de dificuldade.

Agradeço à minha família, por todo o apoio para que eu continuasse estudando e indo em busca dos meus objetivos, serei eternamente grata principalmente ao meu pai por sempre ter me proporcionado as melhores condições para que eu busque as melhores oportunidades, e por todo suporte, paciência e confiança que sempre foi depositado em mim.

Ao meu namorado Renan Ramos por sempre ficar ao meu lado nos momentos bons e ruins e por me fazer acreditar que eu sou capaz de enfrentar as adversidades, por ser um exemplo de pessoa competente e esforçada. À sua família por ter me acolhido bem e tratado tão bem de mim.

Ao Prof. Dr. Diogo Hashimoto pela orientação e ensinamentos, e por sempre me proporcionar muitas oportunidades que me geram aprendizado e crescimento como pessoa e profissional.

À Prof. Dra. Silvia Gallani por ter me dado a oportunidade de conduzir o experimento em seu laboratório, muito obrigada por todos os ensinamentos em microbiologia e sanidade. Pelos conselhos e pelas oportunidades de participar de trabalhos, mesmo não fazendo parte oficialmente do seu laboratório.

Ao Vito Mastrochirico Filho pela paciência, por ter contribuído bastante para condução desse trabalho e por todo ensinamento nas análises de bioinformática.

Ao Arno por ter paciência em ter me ensinado a realizar extração de RNA e por ter me passado muito conhecimento de bancada, que me fizeram ganhar segurança e mais autonomia.

Aos meus amigos do laboratório de microbiologia Elci, Taisa, Iana, Indra, Matheus, Karen e Bianca por terem sido ótimas companhias e por terem me ajudado nas coletas e aprendizados na microbiologia.

À Carol pelos ensinamentos e dicas nas análises de bioinformática, por ter me auxiliado no preparo das amostras para sequenciamento. Como também pela companhia divertida no laboratório.

Aos meus colegas do Lageac Celma, Raquel, John, Jairo, Baltasar, Marcelo e Shisley pela companhia e compreensão quando não pude participar de manejos devido as minhas análises e processo de escrita.

Aos tabaquis utilizados nesse estudo, suas vidas foram importantes na construção desse conhecimento. O presente trabalho foi realizado com apoio da

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) -  
Código de Financiamento 001.

## **APOIO FINANCEIRO**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é um peixe nativo da região amazônica de grande importância para a aquicultura na América do Sul. No entanto, surtos de bacterioses são considerados uns dos principais entraves para a produção desta espécie. A bactéria *Flavobacterium oreochromis* (anteriormente denominada *Flavobacterium columnare*) está relacionada a elevadas taxas de mortalidade em lotes de tambaquis em fase inicial de produção (até 10 g), o que resulta em perdas econômicas consideráveis. A compreensão dos mecanismos que controlam a imunidade dos peixes diante processos patológicos é um fator fundamental para o desenvolvimento de medidas profiláticas e terapêuticas direcionadas para uso na aquicultura. O presente estudo teve como objetivo identificar genes associados à fase aguda de resposta imune de tambaquis infectados com *F. oreochromis*. Para isso, realizamos a extração do RNA total da pele de indivíduos infectados sob 3 condições: assintomáticos (IA) e infectados sintomáticos (IS) após exposição à bactéria, além de um grupo controle (CTR). O RNA-Seq das amostras foi obtido em função da construção de dez bibliotecas de cDNA, sendo 4 para IS, 5 para IA e 1 para o agrupamento CTR. Um total de 24 milhões de leituras foram obtidas por biblioteca, onde sofreram um processo de controle de qualidade. Posteriormente as leituras foram alinhadas ao genoma do tambaqui para análise de expressão diferencial entre as duas condições. Para controlar taxas de falsa descobertas nas análises de expressão diferencial, os p-values foram convertidos para p-ajustados  $< 0.05$ . Um total de 2.470 genes superexpressos e 1.305 subexpressos foram identificados em IS, enquanto 1.358 genes superexpressos e 488 subexpressos foram gerados para IA. Genes superexpressos nas duas condições foram relacionados a processo de autofagia (*atg4b* e *ulk2*), além de genes associados a estresse oxidativo (*klf9*, *ddtit* e *txnip*) regulados pelo mecanismo de proteassomas. Os resultados sugerem a autofagia e outros mecanismos relacionados à homeostase do tambaqui como importantes componentes da defesa imunológica na fase aguda da infecção por *F. oreochromis*.

**PALAVRAS-CHAVE:** desafio bacteriano, imunogenética, peixe nativo, RNA-Seq

## ABSTRACT

The tambaqui (*Colossoma macropomum*) is a fish native to the Amazon region of importance for aquaculture in South America. However, outbreaks of bacterial diseases are considered one of the main obstacles to the production of this species. The bacterium *Flavobacterium oreochromis* (formerly known as *Flavobacterium columnare*) is associated with high mortality rates in batches of tambaquis in the initial production phase (10 g), resulting in considerable economic losses. Understanding the mechanisms that control fish immunity in the face of pathological processes is a fundamental factor for the development of prophylactic and therapeutic measures for use in aquaculture. This study aimed to identify genes associated with the acute phase of immune response in tambaquis infected with *F. oreochromis*. To do this, we extracted total RNA from the skin of infected individuals under three conditions: asymptomatic (IA) and symptomatic infected (IS) after exposure to the bacterium, as well as a control group (CTR). RNA-Seq of the samples was obtained by constructing ten cDNA libraries, with 4 for IS, 5 for IA, and 1 for the CTR group. A total of 24 million reads were obtained per library, which underwent a quality control process. Subsequently, the reads were aligned to the tambaqui genome for differential expression analysis between the two conditions. To control false discovery rates in the differential expression analyses, p-values were converted to adjusted p-values  $< 0.05$ . A total of 2,470 overexpressed genes and 1,305 underexpressed genes were identified in IS, while 1,358 overexpressed genes and 488 underexpressed genes were generated for IA. Genes overexpressed in both conditions were related to autophagy processes (*atg4b* and *ulk2*), as well as genes associated with oxidative stress (*klf9*, *ddtit*, and *txnip*) regulated by the proteasome mechanism. The results suggest autophagy and other mechanisms related to tambaqui homeostasis as important components of the immune defense in the acute phase of *F. oreochromis* infection.

**KEY-WORDS:** bacterial challenge, immunogenetics, peixe nativo, RNA-Seq

## Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	11
1.1 Aspectos gerais da aquicultura .....	11
1.2 Panorama geral da produção do tambaqui .....	11
1.3 Bacterioses nas pisciculturas: Ênfase para o tambaqui .....	12
1.4 Etilogia e a nova classificação do gênero <i>Flavobacterium</i> : Ênfase para <i>Flavobacterium oreochromis</i> .....	13
1.5 Sistema imune de peixes teleósteos .....	15
1.6 Aplicação da transcriptômica para compreensão da resposta imune induzida por patógeno .....	16
2. OBJETIVO GERAL.....	17
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
REFERÊNCIAS .....	18
CAPÍTULO 1 .....	26
3. Introdução .....	28
4. Material e Métodos.....	29
4.1 Declaração de Ética no Uso de Animais .....	29
4.2 Desenho experimental e desafio bacteriano .....	30
4.3 Coleta de amostra, extração e sequenciamento do RNA .....	31
5. Resultados .....	33
5.1 Desafio bacteriano .....	33
5.2 Sequenciamento do RNA .....	34
5.3 Análises de componentes principais .....	36
5.4 Identificação de genes diferencialmente expressos .....	37
5.5 Análise de enriquecimento funcional de genes diferencialmente expressos.....	38
5.6 Genes diferencialmente expressos .....	42
6. Discussão .....	44
6.1 Autofagia .....	45
6.2 Proteassomas .....	46
6.3 Interação do Receptor com a Matriz Extracelular (ECM) e Adesão focal.....	47
7. Conclusão.....	47
Referências.....	48

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Aspectos gerais da aquicultura

O crescimento populacional tem acarretado diversos desafios que deverão ser enfrentados, dentre eles o aumento da demanda por alimentos saudáveis, que vem sendo associada ao esgotamento de recursos naturais aquáticos em longo prazo. Nesse sentido, a aquicultura se destaca como uma fonte promissora, visando fonte de alimentação oriunda de práticas ambientalmente responsáveis. Além disso, a atividade movimenta a economia por meio de geração de empregos e renda. E essas características são diretamente relacionadas com algumas metas globais dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) (Fao, 2022).

Apesar da crise sanitária do COVID-19, o mercado global da aquicultura manteve crescimento estável nos últimos anos. Em 2020 obteve uma produção total de 178 milhões de toneladas de organismos aquáticos, sendo 49% oriundo da aquicultura (Fao, 2022). Desse montante, o continente asiático é responsável por 70 % da produção mundial, seguido pelos países da América, que totalizam 12 % da produção global. Ainda, de acordo com a Fao (2020), é estimado um aumento de 15 % da produção do pescado até 2030.

No cenário brasileiro, as pisciculturas vêm crescendo cada vez mais como um mercado de produção de proteína animal. É estimado que mais de 60 espécies de organismos aquáticos comestíveis são cultivados para comércio no Brasil (Valenti *et al.*, 2021). A maior parte da produção está voltada para a tilápia do Nilo, representando 408.350.403 mil toneladas, seguido do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) (IBGE, 2022).

## 7. Conclusão

Os resultados sugerem que o processo de autofagia e estresse oxidativo está relacionado a um mecanismo de homeostase do tambaqui durante a fase aguda causada por *F. oreochromis*. A progressão de mecanismos imunológicos mais eficientes parece ser pouco desenvolvida, possivelmente associada a desequilíbrios nos mecanismos moleculares envolvidos na homeostase, o que pode prejudicar a progressão da imunidade inata e adquirida. Além disso, *F. oreochromis* pode estar envolvida em estratégias de supressão de vias e/ou mecanismos imunes. No entanto, para uma compreensão mais aprofundada da interação hospedeiro-patógeno, são necessários mais estudos relacionados a análises proteômicas, avaliação das espécies reativas de oxigênio (ROS) e sistema antioxidante do hospedeiro. Esses achados fornecem informações básicas sobre a imunogenética do

tambaqui durante a fase aguda da columnariose, os quais colaboram para o desenvolvimento de medidas profiláticas e terapêuticas para a espécie.

## Referências

Assis, G. B., Pereira, F. L., Zegarra, A. U., Tavares, G. C., Leal, C. A., & Figueiredo, H.C. Uso da espectrometria de massa MALDI-TOF para a identificação rápida de patógenos gram-positivos de peixes. *Frontiers in microbiology* , 8 , 1492, 2017.

Andrews, S., 2010. Fast QC: a quality control tool for high throughput sequence data.

Chapple, S.J., Richard C. M., Mann, G. E., 2012. Crosstalk between Nrf2 and the proteasome: Therapeutic potential of Nrf2 inducers in vascular disease and aging. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, Volume 44, Issue 8.

Chen, L., Huang, R., Li, Y., Li, Y., Li, Y., Liao, L., He, L., Zhu, Z., Wang, Z., 2021. Genome-wide identification, evolution of Krüppel-like factors (klfs) and their expressions during GCRV challenge in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Developmental & Comparative Immunology*, Volume 120.

Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., Gu, J., 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor, *Bioinformatics*, Volume 34, Issue 17, Pages i884–i890, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>

Bowden, T. J., Thompson, K. D., Morgan, A. L., Gratacap, R. M. I., Nikoskelainen, S., 2007. Seasonal variation and the immune response: A fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology* , 695 – 706.

Buchmann, K., Secombes, C. J., 2022. Principles of Fish Immunology. *Springer Nature*.

Declercq, A. M, Haesebrouck, F., Broeck, W. V., Bossier, P., Decostere, A., 2013. Columnaris disease in fish: a review with emphasis on bacterium-host interactions. *Veterinary Research*. 44-27.

Decostere, A., Haesebrouck, F., Devriese, L. A., 1998. Characterization of four *Flavobacterium columnare* (*Flexibacter columnaris*) strains isolated from tropical fish. *Veterinary Microbiology*. 62, 35-45.

Dong, K., Chen, F., Du, Y., Wang, G., 2013. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 886–892.

- Dobin A., Davis C. A., Schlesinger F., Drenkow J., Zaleski C., Jha S, B. P., Chaisson M., Gingeras T. R., 2013. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*. ;29(1):15-21. doi: 10.1093/bioinformatics/bts635.
- Gao, Y., Yoshida, A., Liu, J., Shimizu, T., Shiota, K., Shiina, Y., Osatomi, K., 2021. Molecular cloning and expression dynamics of UNC-45B upon heat shock in the muscle of yellowtail, *Aquaculture*, Volume 541.
- Gomes, L. C., & Silva, C. R., 2009. Impact of pond management on tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier), production during growth-out phase. *Aquaculture Research*, 40(7), 825-832.
- Goody, M. F., Sher, R. B., Henry, C. A., 2015. Hanging on for the ride: Adhesion to the extracellular matrix mediates cellular responses in skeletal muscle morphogenesis and disease, *Developmental Biology*, Volume 401.
- Hynes, R. O., 2009. The extracellular matrix: Not just pretty fibrils. *Science*, Vol 326, Issue 5957.
- Ibge (2022). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>
- Iliev, D. B., Goetz, G. W., MacKenzie, S., Planas, J. V., Goetz, F. W., 2006. Pathogen-associated gene expression profiles in rainbow trout macrophages. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, Volume 1, Issue 4.
- Jiang, W., Hu, K., Liu, Y., Jiang, J., Wu, P., Zhao, J., Zhang, Y., Zhou, X. Q., Feng, L., 2016. Dietary myo-inositol modulates immunity through antioxidant activity and the Nrf2 and E2F4/cyclin signalling factors in the head kidney and spleen following infection of juvenile fish with *Aeromonas hydrophila*, *Fish & Shellfish Immunology*, Volume 49.
- Khatri, P., Sirota, M., Butte, A. J. 2012. Ten years of pathway analysis: current approaches and outstanding challenges. *PLoS computational biology*, 8(2), e1002375.
- Lange, M. D., Farmer, B. D., Declercq, A. M., Peatman, E., Decostere, A., & Beck, B. H., 2017. Sickeningly Sweet: L-rhamnose stimulates *Flavobacterium columnare* biofilm formation and virulence. *Journal of fish diseases*. 40(11), 1613-1624.
- Lee, J., Giordano, S., Zhang, J. 2012. Autophagy, mitochondria and oxidative stress: cross-talk and redox signalling. *Biochem J* 15 January.

- Li, B., Dewey, C.N., RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome., (2011). *BMC Bioinformatics* 12, 323.
- Liu, H., Hu, X., Lian, Z., Luo, Z., Lv, A., Tan, J., 2023. Focal adhesion signaling pathway involved in skin immune response of tongue sole *Cynoglossus semilaevis* to *Vibrio vulnificus* infection, *Fish & Shellfish Immunology*, Volume 135.
- Loch T. P., Faisal M., 2014. Emerging flavobacterial infections in fish: A review, *J Adv Res.*
- Love, M. I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15(12), 1–21.
- MacKenzie S, Iliev D, Liarte C, Koskinen H, Planas JV, Goetz FW., 2006. Transcriptional analysis of LPS-stimulated activation of trout (*Oncorhynchus mykiss*) monocyte/macrophage cells in primary culture treated with cortisol. *Mol Immunol.*
- Mannava, S., Zhuang, D., Nair, J.R., Bansal, R., Wawrzyniak, J.A., Zucker, S.N., Fink, E.E., Moparthy, K.C., Hu, Q., Liu, S. 2012. KLF9 is a novel transcriptional regulator of bortezomib- and LBH589-induced apoptosis in multiple myeloma cells. *Blood* 119, 1450–1458.
- Marancik, D., Gao, G., Paneru, B., Ma, H., Hernandez, A. G., Salem, M., Yao, J., Palti, Y., Wiens, G. D., 2015. Whole-body transcriptome of selectively bred, resistant-, control-, and susceptible-line rainbow trout following experimental challenge with *Flavobacterium psychrophilum*. *Frontiers in Genetic.* 1–15.
- Matsui, Y., Takagi, H., Qu, X., Abdellatif, M., Sakoda, H., Asano, T., Beth, Levine, Junichi, Sadoshima, 2007. Distinct roles of autophagy in the heart during ischemia and reperfusion roles of AMPactivated protein kinase and beclin 1 in mediating autophagy. *Circ. Res.* 100, 914–922.
- Mielke, T. D., Francisco, C. J., Dorella, F.A., Figueiredo, H. C. P., Tavares, G. C., Gallani, S. U., 2022. The strategic use of water additives for tambaqui *Colossoma macropomum* transport: New insights of bacteriosis and productivity approach. *Aquaculture*, Volume 558.
- Pant, A., Yao, X., Lavedrine, A., Viret, C., Dockterman, J., Chauhan, S., Shi, C., Manjithaya, R., Cadwell, K., Kufer, T. A., Kehrl, J. H., Coers, J., L., Sibley, D. L., Faure, M., Taylor, G. A., Chauhan, M. A., 2022 Interactions of Autophagy and the Immune System in Health and Diseases, *Autophagy Reports*, 1:1, 438-515.

- Peatman, E., Li, C., Peterson, B. C., Straus, D. L., Farmer, B. D., Beck, B. H., 2013. Basal polarization of the mucosal compartment in *Flavobacterium columnare* susceptible and resistant channel catfish (*Ictalurus punctatus*), *Molecular Immunology*, Volume 56, Issue 4, Pages 317-327.
- Peatman, E., Baoprasertkul, P., Terhune, J., Xu, P., Nandi, S., Kucuktas, H., Li, P., Wang, S., Somridhivej, B., Dunham, R., Liu, Z., 2007. Expression analysis of the acute phase response in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) after infection with a Gram-negative bacterium. *Molecular Immunology*, Volume 56, Issue 4, Pages 317-327.
- Pérez-Stuardo D., Frazão M., Ibaceta V., Brianson B., Sánchez E., Rivas-Pardo J. A., Vallejos-Vidal E., Reyes-López F. E., Toro-Ascuy D, Vidal E. A, Reyes-Cerpa S., 2023. KLF17 is an important regulatory component of the transcriptomic response of Atlantic salmon macrophages to *Piscirickettsia salmonis* infection. *Front Immunol*.
- Pinto, N., Nissa, M. U., Mujahidkhan, A. P., Yashwanth, B. S., Pratapa, M.G., Srivastava, S., Goswami, M., 2023. High throughput proteomic analysis of *Labeo rohita* liver infected with *Edwardsiella tarda*, *Aquaculture*, Volume 569.
- Pradhan, P. K., Paria, A., Pande, V., Verma, D. K., Arya, P., Rathore, G., & Sood, N., 2019. Expression of immune genes in Indian major carp, *Catla catla* challenged with *Flavobacterium columnare*. *Fish & shellfish immunology*. 94, 599-606.
- Rauta, P., Nayak, B., Das, S., 2012. Immune system and immune responses in fish and their role in comparative immunity study: A model for higher organisms. *Immunology Letters* ,148, 23–3
- Rivas-Aravena, A., Fuentes-Valenzuela, M., Escobar-Aguirre, S., Gallardo-Escarate, C., Molina, A., Valdés, J. A., 2019. Transcriptomic response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skeletal muscle to *Flavobacterium psychrophilum*, *Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics*,
- Singh, S., Mallik, S. K., Kala, K., Shahi, N., Pathak, R., Giri, A. K., Chandra, S., Pant, L., Patiyl, R. S., 2021. Characterization of *Flavobacterium columnare* from farmed infected rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) of Central Indian Himalayan region, India, *Aquaculture*, Volume 544, 737118, ISSN 0044-8486.
- Smith N. C., Navaneethaiyer, U., Kumar, S., Woldemariam, N. T., Rune, A., Christian, S. L., Rise, M, L., 2021. Transcriptome Profiling of Atlantic Salmon Adherent Head Kidney

Leukocytes Reveals That Macrophages Are Selectively Enriched During Culture. *Frontiers in Immunology*, volume 12.

Steven X. G., Dongmin, J., Runan Y., 2020. GO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants, *Bioinformatics*, Volume 36, Issue 8, Pages 2628–2629, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz931>

Stockhammer, O. W., Rauwerda, H., Wittink, F.R., Breit, T. M., Meijer, A. H., Spaink, H. P. 2010. Transcriptome analysis of Traf6 function in the innate immune response of zebrafish embryos, *Molecular Immunology*, Volume 48, Issues 1–3.

Souza, C. F., Baldissera, M. D., Verdi, C. M., Santos, R. C. V., Rocha, M. I. U., Veiga, M. L., Silva, A. S., Baldisserotto, B., 2019. Oxidative stress and antioxidant responses in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* experimentally infected by *Providencia rettgeri*, *Microbial Pathogenesis*, Volume 131.

Souza, C. F., Baldissera, M. D., Guarda, N. S., Bollick, Y. S., Moresco, R. N., Brusque, I. C. M., Santos, R. C. V., Baldisserotto, B., 2017. *Melaleuca alternifolia* essential oil nanoparticles ameliorate the hepatic antioxidant/oxidant status of silver catfish experimentally infected with *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbial Pathogenesis*, Volume 108.

Tavares-Dias, M., Martins, M. L., 2017. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. *Journal of Parasitic Diseases*. 41(4):913–918.

Tongsri, P., Meng, K., Liu, X., Wu, Z., Yin, G., Wang, Q., Liu, M., Xu, Z., 2020. The predominant role of mucosal immunoglobulin IgT in the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after infection with *Flavobacterium columnare*, *Fish & Shellfish Immunology*, Volume 99, Pages 654-662.

Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., Pilarski, F., 2018. South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 351-369.

Xia, X., Wang, X., Qin, W., Jiang, J., Cheng, L., 2019. Emerging regulatory mechanisms and functions of autophagy in fish, *Aquaculture*, Volume 511.

Yasuda, S., Tsuchiya, H., Kaiho, A., Guo, O., Ikeuchi, K., Endo, A., Araj, N., Ohtake, S. M., Inada, T., Baumeister, W., Fernández-Busnadiego, R., Tanaka, K., Saeki, Yasushi. 2020. Stress and ubiquitylation-dependent phase separation of the proteasome. *Nature* 578, 296–300 (2020).

- Yu, Y., Li, C., Wang, Y., Wang, Q., Wang, S., Wei, S., Yang, M., Qin, Q., 2019. Molecular cloning and characterization of grouper Krüppel-like factor 9 gene: Involvement in the fish immune response to viral infection. *Fish & Shellfish Immunology*, Volume 89, Pages 677-686.
- Zhao, L., Tu, J., Zhang, Y., Wang, J., Yang, L., Wang, W., Wu, Z., Meng, Q., Lin, L., 2016. Transcriptomic analysis of the head kidney of Topmouth culter (*Culter alburnus*) infected with *Flavobacterium columnare* with an emphasis on phagosome pathway, *Fish & Shellfish Immunology*, Volume 57, Pages 413-418.
- Zheng, Y., Wu, W., Hu, G., Zhao, Z., Meng, S., Fan, L., Song, C., Qiu, L., Chen, J., 2018. Hepatic transcriptome analysis of juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets supplemented with different concentrations of resveratrol, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 147, Pages 447-454.
- Zhou, W., Zhang, Y., Wen, Y., Ji, W., Zhou, Y., Ji, Y., Liu, X., Wang, W., Asim, M., Liang, X., Ai, T., Lin, L., 2015. Analysis of the transcriptomic profilings of Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) infected with *Flavobacterium columnare* with an emphasis on immune responses, *Fish & Shellfish Immunology*, Volume 43.
- Zucker, S. N., Fink, E. E., Bagati, A., Mannava, S., Bianchi-Smiraglia, A., Bogner, P. N., Nikiforov, M. A. 2014. Nrf2 amplifies oxidative stress via induction of Klf9. *Molecular cell*, 53(6), 916-928.