

**GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA**

**PREBIÓTICO E PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE PÓS-LARVAS DE
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Ednara Ronise Lima de Araújo

**Orientador: Helcio Luis de Almeida Marques
Co-orientador: Leonardo Tachibana**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca, APTA – SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

**São Paulo
Novembro - 2016**

**GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA**

**PREBIÓTICO E PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE PÓS-LARVAS DE
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Ednara Ronise Lima de Araújo

**Orientador: Helcio Luis de Almeida Marques
Co-orientador: Leonardo Tachibana**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca, APTA – SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

**São Paulo
Novembro – 2016**

A15p

Araújo, Ednara Ronise Lima de
Prebiótico e probiótico na alimentação de pós-larvas de tilápia do Nilo
(*Oreochromis niloticus*) / Ednara Ronise Lima de Araújo – São Paulo, 2016.
vi, 38f.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e
Abastecimento.

Orientador: Helcio Luis de Almeida Marques

1. Reversão sexual. 2. Larvicultura. 3. Prebiótico. 4. Probiótico.
5. Simbiótico. I. Marques, Helcio Luis de Almeida II. Título.



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

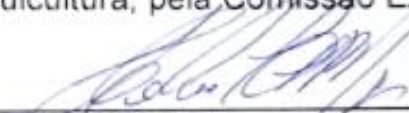
"PREBIÓTICO E PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE PÓS-LARVAS DE
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)".

ALUNA: Ednara Ronise de Araújo

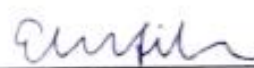
ORIENTADOR: Helcio Luis de Almeida Marques

CO-ORIENTADOR: Leonardo Tachibana

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de
MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em
Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Helcio Luis de Almeida Marques

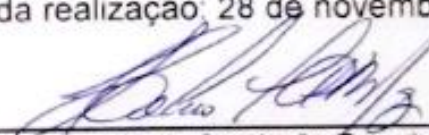


Profa. Dra. Elyara Maria Pereira da Silva



Prof. Dr. Ricardo Luiz Moro de Sousa

Data da realização: 28 de novembro de 2016



Presidente da Comissão Examinadora
Prof. Dr. Helcio Luis de Almeida Marques

“Na vida só vale o amor e
a amizade. O resto é tudo pinoia, é tudo
presunção, não paga a pena...”

(Dona Flor e seus dois maridos, de Jorge Amado)

Dedicatória

Dedico esse trabalho à minha família, por todo amor, dedicação e paciência.

Agradecimentos

Aos meus pais, *Rosângela da Silva Lima* e *Edmilson João Abreu de Araújo*, e à minha avó, *Cecília da Silva Lima*, pelo amor, confiança e paciência. Nunca mediram esforços para que eu pudesse me dedicar aos meus interesses profissionais.

Aos meus irmãos *Maria Ester da Silva Souza* e *Rômulo Edjuno da Silva Araújo*, pelo apoio e compreensão, e à minha linda princesa, *Marystella da Silva Souza*, por todo amor que recebo.

Ao meu orientador *Dr. Helcio Luis de Almeida Marques*, pelo conhecimento compartilhado e sugestões.

Ao meu co-orientador *Dr. Leonardo Tachibana*, pela oportunidade de ter feito parte dessa equipe onde pude aprender e melhorar meus conhecimentos, pelos conselhos, ensinamentos correções e cooperação.

Ao amigo e ex-professor *Dr. Luis André Luz Barbas* do Instituto Federal do Pará, pelos conselhos, correções, sugestões e auxílio inclusive na análise estatística dos dados, foram essenciais na execução desse trabalho.

À *CAPES* (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior) pela concessão de bolsa de estudos.

À Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), particularmente ao chefe da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Pirassununga, *Dr. Fábio Rosa Sussel*, por disponibilizar a infraestrutura necessária para realização deste projeto, pela ajuda e atenção dada.

Aos pesquisadores *Dr^a Danielle de Carla Dias*, *Dr. Carlos Massatoshi Ishikawa*, pelos conselhos, auxílio e apoio durante a realização desse trabalho.

À *Prof^a. Dr^a. Ana Maria Cristina Rebello Pinto da Fonseca Martins* do Laboratório Interinstitucional de Sanidade em Aquicultura do Instituto Biológico de São Paulo, pela solicitude e cooperação nas análises que possibilitaram a execução desse projeto.

Ao *Dr. Giovani Sampaio Gonçalves*, pelas sugestões e auxílio nas formulações e preparo das rações.

À Prof^a. Dr^a. *Elisabeth Romagosa* e à Prof^a. Dr^a. *Maria José T. Razani-Paiva*, pela amizade, conselhos e incentivos e ao *Dr. Marcello Boock* pelo conhecimento compartilhado.

Aos meus amigos, sempre serei mais grata do que vou conseguir expressar:

- Amigas que sempre me apoiaram, independente da distância sempre estiveram presentes, obrigada pelos conselhos, preocupações, risos, estímulos e críticas: *Bianca Reis Pires, Maria Vanessa F. S. Silva e Tatiane Mendes de Souza*.

- Amigos que tive o prazer de conhecer ao chegar aqui e que já são “para sempre”. Que me ajudaram, não como queriam, mas ainda assim como e até onde puderam: *Eliana Oshiro, Guilherme Silveira Telli, Mariana Machado Evangelista, Mayara Moura, Raissa Bertoncello Cavalcante e Thaís Monteiro Ferreira*.

- Amigos que me acolheram em suas casas muitas vezes, e que me fizeram sentir da família. Pela ajuda e conselhos, meu agradecimento especial à *Maria de Fátima Bertoncello e Natassia Cavalcante*; e *Camila Melo e Ana Carolina*. Espero que vocês saibam o quanto foram importantes nessa caminhada.

Aos funcionários do APTA – Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Pirassununga, *Jair Donizetti Mazzafero, Claudio Cirineu Ciola, Tereza Jacintho de Souza e Aparecida Conceição Mariscal* pela solicitude.

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, direta ou indiretamente, e que estiveram sempre presentes nos bons e maus momentos.

Sumário

INDICE DE TABELAS E FIGURAS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	6
Capítulo 1: PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE PÓS-LARVAS DE TILÁPIA-DO-NILO: IMUNOLOGIA, HISTOLOGIA, MICROBIOLOGIA INTESTINAL E DESAFIO BACTERIANO.	
Resumo.....	13
Abstract.....	13
Introdução.....	14
Material e Métodos.....	16
Resultados.....	22
Discussão.....	28
Conclusão.....	31
Agradecimentos.....	32
Referências Bibliográficas.....	33
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

TABELA 1 - Composição percentual e química das dietas experimentais de tilápias-do-nilo, <i>O. niloticus</i> dos grupos T0 – Controle, T1 – Active-Mos [®] , T2 – PAS-TR, T3 – Bioplus 2BC [®] , T4 – Active-Mos [®] + PAS-TR [®] , T5 – Active-Mos [®] + BioPlus 2BC [®]	18
TABELA 2 - Valores médios e desvios padrões dos parâmetros de desempenho zootécnico de crescimento e composição bromatológica das pós-larvas de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas adicionadas de prebiótico e/ou probiótico no período de 28 dias).....	23
FIGURA 1 - Contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), transformadas em log ₁₀ , da microbiota intestinal de formas jovens de tilápia-do-nilo <i>O. niloticus</i> , cultivadas em placas contendo <i>Tryptic Soy Agar</i> (TSA) para contagem de bactérias totais e em <i>Bacillus Differentiation Agar</i> para contagem de bactérias do gênero <i>Bacillus</i>	24
TABELA 3 - Histomorfometria da porção média do intestino de formas jovens de tilápias-do-nilo, <i>O. niloticus</i>	25
FIGURA 2 - Mortalidade acumulada de pós larvas de tilápia-do-nilo <i>O. niloticus</i> no período de 15 dias, após infecção via injeção intraperitoneal com a bactéria <i>Aeromonas hydrophila</i>	26
FIGURA 3 - Nível de Proteção Relativa (NPR) após infecção de pós larvas de tilápia-do-nilo <i>O. niloticus</i> , considerando a mortalidade no tratamento controle de 52,5%.....	27
TABELA 4 - Análise de orçamento parcial após o período de reversão sexual (28 dias) nos diferentes grupos testados para um milheiro de pós-larvas de tilápia-do-nilo <i>O. niloticus</i>	28

RESUMO

A reversão sexual é considerada uma das fases mais críticas no sistema de produção de tilápias. Neste sentido, objetivou-se avaliar a utilização do prebiótico Active-Mos® e de dois probióticos (PAS-TR® – *Bacillus cereus* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹ e *Bacillus subtilis* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹; e Bioplus 2BC® – *Bacillus subtilis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g⁻¹ e *Bacillus licheniformis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g⁻¹) testados juntos e separadamente na alimentação de pós-larvas (PL) de tilápia-do-nylo durante o período de reversão sexual. O experimento foi realizado em duas etapas, na primeira, foram utilizadas 2.160 PL com 3 dias após a eclosão ($10,39 \pm 0,85$ mm e $12,28 \pm 3,15$ mg), estocadas em 24 aquários com volume útil de 30 L na densidade de 3,0 PL.L⁻¹, onde foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico de crescimento, composição corporal, recuperação bacteriana e histomorfometria das vilosidades intestinais. Na segunda etapa, foram utilizados 240 animais ($4,28 \pm 0,19$ cm e $1,19 \pm 0,09$ g) provenientes da etapa anterior na densidade de 10 PL.aquário⁻¹ e foram avaliados a sobrevivência e nível de proteção relativa (NPR) após desafio bacteriano com *Aeromonas hydrophila*. A metodologia de análise de orçamentos parciais foi aplicada nos dados referentes às duas fases. Em ambas as etapas foram utilizados 6 tratamentos com 4 repetições em delineamento experimental inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ($p < 0,05$). A inclusão dos aditivos não afetou significativamente os parâmetros de desempenho de crescimento, sobrevivência e histomorfométricos avaliados. Após infecção experimental, foi verificada influência positiva da inclusão dos aditivos tanto no NPR quanto nos lucros parciais. Dessa forma, recomenda-se a utilização do simbiótico (Active-MOS® + Bioplus 2BC®) em pisciculturas que tenham surtos recorrentes de bacteriose nas PL de tilápia-do-nylo durante a fase de reversão sexual.

Palavras-chave: Reversão sexual, Larvicultura, Prebiótico, Probiótico, Simbiótico

ABSTRACT

The sex reversal is considered the most critical stage in fish production. This study aimed to evaluate the use of the prebiotic Active-Mos® and two probiotics: PAS-TR® (*Bacillus cereus* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹ and *Bacillus subtilis* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹) and Bioplus 2BC® (*Bacillus subtilis* - 1.6×10^{10} UFC g⁻¹ and *Bacillus licheniformis* - 1.6×10^{10} UFC g⁻¹) tested separately and together, in the diet of Nile tilapia post-larvae (PL) during the sex reversal phase. The experiment was conducted in two stages: firstly, a total of 2,160 of 3-days old post larvae (10.39 ± 0.85 mm and 12.28 ± 3.15 mg) were used, and distributed in 24 tanks of 40L each (3,0 PL.L⁻¹). Growth performance, chemical analysis of carcass, bacterial recovery and histomorphometry of intestinal villi were evaluated. For the second experiment, 240 tilapia (4.28 ± 0.19 cm e 1.19 ± 0.09 g) from the previous experiment were used and stocked at 10 PL.aquarium⁻¹. The parameters evaluated were survival and level of relative protection after bacterial challenge with *Aeromonas hydrophila*. Partial cost analysis was performed to dataset from both experiments. Six treatments with four replications in a completely randomized design were used for both experimental stages. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test ($p < 0.05$). Additives in the diet of tilapia post-larvae did not determine significant differences in growth, survival, microbiological or histomorphometric parameters in this study. After the experimental infection, positive influence of the additive inclusion was observed on the level of relative protection and partial cost gains. Based on the results of this study we recommend the use of symbiotic (Active-MOS® +Bioplus 2BC®) in the farming of Nile tilapia PL with recurrent outbreaks of bacterial diseases in PL of Nile tilapia during the sexual reversal phase.

Key Words: Sex reversal, Larvae culture, Nutrition, Prebiotic, Probiotic Synbiotic.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Dados da FAO (2016) estimam que a produção aquícola mundial deve alcançar 195,9 milhões de toneladas em 2025, observando-se um aumento de 17% em comparação à produção de 2013-2015 que foi de 166,8 milhões, sendo que quase todo esse aumento ocorrerá nos países em desenvolvimento. A estimativa é que as espécies de água doce serão responsáveis pela maior parte deste crescimento, podendo representar aproximadamente 60% da produção total.

A tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) pertence à família dos ciclídeos e é atualmente uma das espécies de maior importância na aquicultura mundial. Sua produção tem sido o grande destaque nacional, com um aumento de 105% (de 64.857,5t para 132.957,8t) entre os anos de 2003 a 2009. Foi a quarta espécie mais produzida no mundo em 2014 (FAO, 2016) e hoje é a espécie de peixe mais cultivada no Brasil, representando 47% da produção nacional (SEBRAE, 2015).

No Mapeamento do Cenário Mercadológico da Aquicultura no Brasil realizado pelo SEBRAE, a tilápia apresenta inúmeras vantagens como a aceitação da proteína de origem vegetal, alta resistência ao manejo em alta densidade, bom desempenho produtivo, alcançando de 600 a 800 gramas entre quatro e seis meses de cultivo e resistência à amplitude térmica da água, com temperatura ideal para seu desenvolvimento variando entre 25 e 30° C, permitindo a sua fácil adaptação às variadas condições de cultivo. Essas características fazem desta espécie uma das mais indicadas e mais produzidas em sistema intensivo (EL-SAYED, 2006; TEIXEIRA, 2006; NOGUEIRA e RODRIGUES, 2007; AYROZA, 2009; SCHWARZ *et al.*, 2010; SEBRAE, 2015).

Os recentes avanços no desenvolvimento de técnicas de produção permitiram que a criação intensiva se estruturasse pelas vantagens, principalmente no aumento da produtividade e minimização dos custos de produção (TOYAMA *et al.*, 2000). No entanto, a intensificação na produção exige uma maior dependência no uso de alimentos formulados, podendo afetar a qualidade da água do sistema, favorecendo a multiplicação de microrganismos em consequência da elevação da matéria orgânica (KUBITZA,

2005; MEIRELLES, 2010). Logo, nos sistemas de produção intensiva de peixes, a sanidade passa a ser um dos aspectos mais importantes para a criação comercial, não só para tilápia, mas para todas as espécies (ZAGO, 2012).

As altas densidades de estocagem dos peixes nas criações comerciais aumentam a susceptibilidade a infecções por bactérias, que se proliferam rapidamente em ambiente aquáticos, sendo um dos principais problemas enfrentados pela indústria aquícola (FAO, 2004; SMITH *et al.*, 2003; SANTOS, 2005),

Dentre as bactérias relacionadas à surtos no cultivo de tilápias, estão as do gênero *Aeromonas*, que são consideradas um dos principais agentes com potencial patogênico em pisciculturas intensivas, sendo responsáveis por perdas econômicas e, por serem espécies oportunistas, que habitam também no material em decomposição na água e no fundo dos viveiros (SOUZA e SILVA-SOUZA, 2001; DUGENCI e CANDAN, 2003).

O sistema intensivo também é utilizado na criação de larvas e pós-larvas de tilápia-do-nilo. Para essa espécie é muito utilizada a tecnologia de reversão sexual com o hormônio 17- α -metiltestosterona, visando a obtenção de populações monossexo macho para a engorda, pois nesta espécie este apresenta melhor desempenho quando comparado com a fêmea (CARRASCO *et al.*, 1999; STICKNEY, 2000; PHELPS e POPMA, 2000).

Contudo, a larvicultura é o período em que ocorrem as maiores incidências de mortalidade, e por isso, a necessidade de se obter alevinos de qualidade e adotar técnicas de manejos adequadas para a fase (McINTOSH, 1996; HAYASHI *et al.*, 2002; SOARES *et al.*, 2001; FARIAS *et al.*, 2004).

A busca por alternativas para uma dieta equilibrada que, além de contribuir para as necessidades nutricionais, possa ser uma alternativa ao uso de antibióticos e uma opção na prevenção de enfermidades, tem sido alvo de diversas pesquisas, constituindo assim os chamados alimentos funcionais (SANDERS, 1998; SILVA e NÖRBERG, 2003).

Esses alimentos têm sido adotados como estratégias para prevenir as enfermidades e manter os plantéis mais saudáveis. Entre eles se incluem os

probióticos e prebióticos, que já vêm sendo aplicados na aquicultura, com objetivo de garantir um desempenho zootécnico satisfatório e reduzir a carga de bactérias indesejáveis no trato intestinal dos peixes, aumentando a taxa de sobrevivência por meio do aumento na resistência imunológica dos peixes às doenças infecciosas (SAKAI, 1999; RAA, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2002; ARAÚJO, 2006; LIMA *et al.*, 2009).

Os probióticos, das diversas conceituações, foram descritos por FULLER (1989) como microrganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro pelo equilíbrio da microbiota intestinal. Dentre os vários critérios adotados para se considerar tais organismos vivos como probióticos, além de não serem patogênicos e serem resistentes aos sais biliares, enzimas digestivas, e ao pH baixo do estômago, devem possuir de acordo com COLLINS *et al.* (1999) e SAARELA *et al.* (2000), a capacidade de se aderir à mucosa intestinal e fazer a colonização, mesmo que temporária, do trato gastrintestinal.

Esses organismos interferem de forma benéfica no sistema imunológico dos peixes (KIM e AUSTIN, 2006; INOOKA *et al.*, 1986) atuando como promotores de crescimento e moduladores do sistema imunitário, promovendo um aumento na tolerância ao estresse (VERSCHUERE *et al.*, 2000; RINGO *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2008) e inibindo o crescimento de agentes patogênicos no trato digestório por meio da acidificação do ambiente e exclusão competitiva por locais de adesão, além de aumentar a atividade enzimática (FULLER, 1977; OZAWA *et al.*, 1978; WATKINS e MILLER, 1983; BAIRAGI *et al.*, 2002).

Diversos microrganismos podem ser utilizados como probióticos sendo mais usuais na aquicultura as bactérias do gênero *Bacillus*, bactérias fotossintéticas e, em alguns casos, as leveduras como *Saccharomyces cerevisiae* (WANG, 2007; CARNEVALI *et al.*, 2006; WANG e XU, 2006; MERRIFIELD *et al.*, 2010). Nesse grupo está o *Bacillus subtilis*, que é um dos probióticos mais difundidos na produção animal, classificado como bactéria gram positiva não patogênica, bastante resistente aos ambientes inóspitos e que habita o solo, a água, e também a microbiota intestinal de animais terrestres e aquáticos (KONEMAN, 2007).

Bactérias desse gênero, quando disponibilizadas no ambiente de cultivo, podem agir de forma positiva sobre os organismos, sendo capazes de estimular os sistemas digestivo e imune, aumentando a sobrevivência e melhorando o crescimento (GATESOUBE, 1999; ZIAEINEJAD *et al.*, 2006).

Já os prebióticos podem ser definidos de acordo com GIBSON e ROBERFROID (1995) como aditivos zootécnicos não degradados pelas enzimas digestivas, mas que são fermentados pela flora bacteriana do trato digestório e que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e a atividade de bactérias benéficas para o trato gastrointestinal.

Esses aditivos são promissores suplementos alimentares de fácil comercialização (OLIVEIRA *et al.*, 2007), sendo utilizados como imunoestimulantes e capazes de modificar a composição da microflora intestinal, permitindo a colonização predominante de bactérias benéficas, a partir de um pequeno número de colônias presentes (ROBERFROID, 1998).

Os prebióticos podem ser derivados de bactérias e leveduras, como o mananoligossacarídeo (MOS) que é um prebiótico extraído de células de levedura, facilmente adicionado à dieta dos peixes (SILVA e NÖRNBERG, 2003) e que de acordo com GIBSON (1998), estimulam o crescimento de bactérias benéficas, atuando como bloqueadores de sítios de aderência de bactérias patogênicas, reduzindo a capacidade de se manterem no trato gastrointestinal. O MOS também é eficaz na aglutinação de bactérias patogênicas, impedindo a colonização e proliferação destas no intestino (SANTURIO, 2005), podendo também funcionar como adjuvante para efeito de exclusão competitiva.

Tanto os probióticos quanto os prebióticos têm como objetivos aumentar a resistência do hospedeiro e modular os mecanismos de defesa específicos e não específicos contra os patógenos oportunistas (GALINDO-VILLEGA e HOSOKAWA, 2004). A fim de se obter maior eficácia de ambos os produtos, utiliza-se a combinação entre eles, para a obtenção de um efeito simbiótico (FERREIRA, 2003). A ação simbiótica estabiliza o meio intestinal

aumentando a quantidade de bactérias benéficas que produzem ácido lático, o que favorece a eubiose (equilíbrio intestinal) (FULLER, 1989).

Ambos os aditivos atuam melhorando o sistema imune inespecífico e a resistência dos peixes às infecções bacterianas e aos patógenos oportunistas, possibilitando uma interação entre a parede celular desses aditivos com o intestino dos peixes, promovendo alterações na histomorfometria intestinal que irão influenciar diretamente na absorção de nutrientes e, conseqüentemente, no crescimento e na saúde dos animais (LARA-FLORES *et al.*, 2003; GALINDO-VILLEGA e HOSOKAWA, 2004; SCHWARZ *et al.*, 2011).

De modo geral, na nutrição animal, o intestino é um dos órgãos de maior importância e é onde estão presentes as vilosidades ou vilos intestinais, que são evaginações que aumentam a área, a eficiência e a capacidade de absorção e onde ocorrem os principais processos de digestão e absorção dos nutrientes (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Desta forma, a presença de bactérias benéficas irá afetar positivamente a digestão dos alimentos devido ao funcionamento ideal das células das vilosidades intestinais, que absorvem os nutrientes com maior eficiência (HISANO *et al.*, 2006), melhorando o aproveitamento dos alimentos, reduzindo a excreção de nutrientes com vistas a maximizar a eficiência produtiva e, conseqüente, melhoria dos custos e da rentabilidade (GATLIN III *et al.*, 2006).

No intuito de publicar os resultados do presente trabalho, foi elaborado o artigo científico intitulado “*Prebiótico, probióticos e simbióticos na alimentação de pós larvas de tilápia-do-nylo: desempenho zootécnico, histomorfometria, resistência bacteriana e orçamento parcial*”, seguindo as normas para publicação no periódico científico “*Aquaculture International*”, classificado com o nível B-1 no Qualis da CAPES para a área de Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

2. OBJETIVOS

- **Objetivos Gerais**

Avaliar os efeitos da inclusão de probióticos e prebióticos na alimentação de pós-larvas de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual.

- **Objetivos Específicos**

- Avaliar os parâmetros de desempenho zootécnico de crescimento, microbiológicos, morfologia intestinal, composição corporal e sobrevivência de pós-larvas de tilápia-do-nilo alimentadas com dieta contendo o prebiótico Active-Mos® e dois probióticos (PAS-TR® e Bioplus 2BC®) testados de forma associada e separadamente;

- Avaliar os índices de proteção relativa dos peixes após infecção experimental com a bactéria *Aeromonas hydrophila*;

- Avaliar o orçamento parcial envolvido com o uso destes aditivos adicionados à ração experimental em dois possíveis cenários, com e sem o surto de bactérias.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, G. S. 2006 Efeito imunoestimulante dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Gracilaria caudata* na reversão sexual de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS, 1766) em condições adversas. Fortaleza. 71f. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/1128>> Acesso em: 21 fev. 2014.

AYROZA, L. M. S. 2009 Criação de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, em tanques-rede, na Usina Hidrelétrica de Chavantes, Rio Paranapanema, Sp/Pr. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal -SP.

BAIRAGI, A.; SAKAR GHOSH, K.; SEN, S.K.; RAY, A.K. 2002 Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*. 10: 109–121.

CARNEVALI, O.; VIVO, L.; SULPIZIO, R.; GIOACCHINI, G.; OLIVOTTO, L.; SILVI, S.; CRESCI, A. 2006 Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. *Aquaculture*, 258: 430–438.

- CARRASCO, L.A.P.; PENMAN, D.J.; VILLALOBOS, S.A. 1999 The effects of oral administration with 17 α -methyltestosterone on chromosomal synapses in *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). *Mutation Research*, 430: 87-98.
- COLLINS, M.D.; and GIBSON, G.R. 1999 Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, 69: 1052-1057.
- DUGENCI, S. K.; and CANDAN, A. 2003 Isolation of *Aeromonas* sp. strains from the intestinal flora of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L. 1758) turk. *Journal Veterinária Animal Science*. 27: 1071-1075.
- EL-SAYED, A. M. 2006 *Tilapia culture*. London: Cabi. 277p.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2004 *Fish Statistics*. Rome, Italy: FAO.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2016 The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. *Contributing to food security and nutrition for all*. Rome. 200 p.
- FARIAS, W. R. L.; REBOUÇAS, H. J.; TORRES, V. M.; RODRIGUES, J. A. G.; PONTES, G. C.; SILVA, F. H. O.; SAMPAIO, A. H. 2004 Enhancement of growth in tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*) by sulfated D-galactans extracted from marine algae. *Revista Ciência Agronômica*, 35: 189-195, Número especial.
- FERREIRA, C. L. L. F. 2003 *Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção*. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2006p.
- FULLER, R. 1977 The importance of *Lactobacilli* in maintaining normal microbial balance in the crop. *British Poultry Science*, 18: 85-94.
- FULLER, R. 1989 Probiotics in man and animals: A review. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.
- GALINDO-VILLEGA, J.; and HOSOKAWA, H. 2004 *Immunostimulants: Towards temporary prevention of disease in marine fish*. In: Cruz Suárez, L.E.; Ricque Merie, D.; Nieto López, M.G.; Villareal, D.; Scholz, U. e Gonzáles, M. 2004. Avances en Nutrición Acuícola VII. In: MEMORIAS DEL VII SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA. 16 a 19 de Novembro de 2004. Hermosillo, Sonora, México.
- GATESOUBE, F.J. 1999 The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180: 147–165.
- GATLIN III, D.M.; LI, P.; WANG, X.; BURR, G.S.; CASTILLE, F.; LAWRENCE, A.L. 2006 *Potential application of prebiotics in aquaculture*. En: Avances en Nutrición Acuícola VIII. In: VIII SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México, 371-376.
- GIBSON, G. R. 1998 Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *British Journal of Nutrition*. 80:S209-12.

- GIBSON, G. R.; and ROBERFROID, M. B. 1995 Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, Bethesda, 125: 1401-1412.
- HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R.; SOARES, C. M. 2002 Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a reversão sexual. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31: 823-828.
- HISANO, H.; SILVA, M. D. P.; BARROS, M. M., PEZZATO, L. E. 2006 Levedura integral e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. *Acta Scientiarum*, 28: 311-318.
- INOOKA, S.; UEHARA, S.; KIMURA, M. 1986 The effect of Bacillus natto on the T and B lymphocytes from spleens of feeding chickens. *Poultry Science*., 65:1217-1219.
- JUNQUEIRA, L. C.; e CARNEIRO, J. 2013 *Histologia Básica – texto e atlas*. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 556p.
- KIM D. H.; and AUSTIN B. 2006 Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish and Shellfish Immunology*, 21: 513–524.
- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR., W.C. 2007 *Diagnóstico microbiológico* 6º. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1488p.
- KUBITZA, F. 2005 Antecipando-se às doenças na tilapicultura. *Panorama da aquicultura*, 15: 15-23.
- LARA-FLORES, M.; OLEVERA-NOVOA, M. A.; GUZMÁN-MÉNDEZ, B. E.; LÓPEZ-MADRID, W. 2003 Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216: 193-201.
- LIMA, P. C. W. C.; TORRES, V. M.; RODRIGUES, J. A. G.; SOUSA, J. J.; FARIAS, W. R. L. 2009 Efeito dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha parda *Spatoglossum schroederi* em juvenis de *Litopenaeus vannamei*. *Revista Ciência Agronômica*, 40: 79-85.
- McINTOSH, G. H. 1996 Probiotics and colon cancer prevention. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 5: 48-52.
- MEIRELLES, F. S. de. 2010 *Estudo epidemiológico das infecções bacterianas em tilápias Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758), cultivadas em Pernambuco*. 77f. Tese (Pósgraduação de Ciência Veterinária) – Universidade Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife.
- MERRIFIELD, D.L.; DIMITROGLOU, A.; FOEY, A.; DAVIES, S.J.; BAKER, R.; BØGWALD, J.; CASTEX, M.; RINGØ, E. 2010 The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302: 1–18.
- NOGUEIRA, A.; RODRIGUES, T. 2007 Criação de tilápias em tanques-rede. *SEBRAE*, Salvador, Bahia.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO J.H.A.; SAAD, S.M.I. 2002 Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 38: 1-21.

OLIVEIRA, M.C.; CANCHERINI, L.C.; GRAVENA, R.A.; RIZZO, P.V.R.; MORAES, V.M.B. 2007 Utilização de nutrientes de dietas contendo mananoligossacarídeo e/ou complexo enzimático para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36: 825-831.

OZAWA, K.; YABU-UCHI, K. & YAMANAK, K. 1978 Antagonistic effects of *Bacillus natto* and *Streptococcus faecalis* on growth of *Candida albicans*. *Microbiology Immunology*, 23: 1147-1156.

PHELPS, R. P.; and POPMA, T. J. 2000 Sex Reversal of Tilapia. In: COSTA-PIERCE, B. A.; RAKOCY, J. E. (Ed). *Tilapia aquaculture in the Americas*. Louisiana: The Aquaculture Society. 2: 34-59.

RAA, J. 2000 The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. In: AVANCES EM NUTRICIÓN ACUÍCOLA. MEMORIAL DEL V SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA. 7., 2000, Yucatan. *Anais eletrônicos...Yucatan: Mérida, 2000. 47-56.*

RINGO E.; SCHILLINGER, U.; HOLZAPFEL, W. 2005 Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from aquatic animals and the use of lactic acid bacteria in aquaculture. *Biology of Growing Animals*, Chapter 18: 418-453.

ROBERFROID, M. B. 1998 Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *British Journal of Nutrition*. 80: 197-202.

SAKAI, M. 1999 Current research status of fish immunoestimulants. *Aquaculture*, 172, p. 63-92.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDEN, R.; MATTO, J; MATTILA-SANDHOLM, T. 2000 Probiotic bacteria safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 8: 197-215.

SANDERS, M. E. 1998 Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 8: 341-347.

SANTOS, M. L. 2005 *Programa de biossegurança para fazendas de camarão marinho*. Recife: ABCC, Associação Brasileira de Criadores de Camarão. 61p.

SANTURIO, J. 2005 *A hora e a vez dos prebióticos*, Disponível em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br/PortalGessulli/WebSite/Noticias/a-hora-e-a-vezdosprebioticos,14419.aspx>. Acesso em: 08/08/2015.

SEBRAE. 2015 *Aquicultura no Brasil: série estudos mercadológicos*, Disponível em: [http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/\\$File/5403.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/$File/5403.pdf). Acesso em: 30/06/2016.

SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; MICHELATO, M.; GUALDEZI, M. C. 2010 Mananoligossacarídeo em dietas para juvenis de tilápias do Nilo. *Acta Scientiarum. Animal Science*, Maringá, 32: 197-203.

- SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; GUALDEZI, M. C.; LIMA, P. A. G. 2011 Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 40: 2634-2640.
- SILVA, L.P.; e NÖRNBERG, J.L. 2003 Prebióticos na nutrição de não ruminantes. *Ciência Rural*, 33: 983-990.
- SOUSA, J. A.; e SILVA-SOUZA, A. T. 2001 Bacterial community associated with fish and water from Congonhas river, Sertaneja, Paraná, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 44: 373-381.
- SOARES, C.M. 2001 Influência da disponibilidade de presas, do contraste visual e do tamanho das larvas de *Pantala sp.* (Odonata, Insecta) sobre predação de *Simocephalus serrulatus* (Cladocera, Crustacea). *Acta Scientiarum*, Maringá, 23: 357-362.
- SMITH, V.J.; BROWN, J.H.; HAUTON, C. 2003 Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection?. *Fish and Shellfish Immunology*, 15: 71-90.
- STICKNEY, R.R. 2000 Status of research on tilapia. In: COSTAPIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E. (Eds.). Tilapia aquaculture in the Americas. Louisiana. *World Aquaculture Society*, 2: 21-33.
- TEIXEIRA, A. L. C. M. 2006 *Estudo da viabilidade técnica e econômica do cultivo de tilápia do nilo Oreochromis niloticus, linhagem chitralada, em tanques-rede com duas densidades de estocagem*. Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- TOYAMA, G.N; CORRENTE, J.E.; CYRINO, J. E. P. 2000 Suplementação de vitamina C em rações para reversão sexual da tilápiado-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Scientia Agricola*, 57: 221-228.
- VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P. & VERSTRAETE, W. 2000 Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 655-671.
- WANG, Y.B. 2007 Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 269, p. 259–264.
- WANG, Y.B.; and XU, Z.R. 2006 Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal Feed Science and Technology*.
- WANG, Y.B.; TIAN, Z.Q.; YAO, J.T.; LI, W.F. 2008 Effect of probiotic faecium, on tilapia (*Oreochromis niuloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, 277: 203-207.
- WATKINS, B.A.; and MILLER, B.F. 1983 Competitive gut exclusion of avian pathogens by *Lactobacillus acidophilus* in gnotobiotic chicks. *Poultry Science*, 61: 1772-1779.
- ZAGO, A. C. 2012 *Análise parasitológica e microbiológica de tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus) criadas em tanques-rede no reservatório de Água Vermelha - SP e suas inter-relações com as variáveis limnológicas e fase de*

criação. Botucatu. 69f. Dissertação de Mestrado Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências). Disponível em:<
<http://hdl.handle.net/11449/99443>> Acesso em: 21 fev 2015.

ZIAEI-NEJAD, S.; REZAEIB, M.H.; TAKAMIC, G.A.; LOVETTD, D.L.; MIRVAGHEFIA, A.; SHAKOURIE, M. 2006 The effect of *Bacillus spp.* bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252: 516-524.

CAPÍTULO 1

PREBIÓTICO, PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE PÓS LARVAS DE TILÁPIA-DO-NILO: DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE CRESCIMENTO, RESISTÊNCIA BACTERIANA E ORÇAMENTO PARCIAL

PREBIÓTICO, PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE PÓS LARVAS DE TILÁPIA-DO-NILO: DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE CRESCIMENTO, RESISTÊNCIA BACTERIANA E ANÁLISE DE ORÇAMENTO PARCIAL

RESUMO Objetivou-se avaliar a utilização do prebiótico Active-Mos® e de dois probióticos (PAS-TR® – *Bacillus cereus* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹ e *Bacillus subtilis* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹; e Bioplus 2BC® – *Bacillus subtilis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g⁻¹ e *Bacillus licheniformis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g⁻¹) testados juntos e separadamente na alimentação de pós-larvas (PL) de tilápia-do-nilo durante o período de reversão sexual. O experimento foi realizado em duas etapas. Na primeira, foram utilizadas 2.160 PL com 3 dias após a eclosão ($10,39 \pm 0,85$ mm de comprimento total e $12,28 \pm 3,15$ mg de peso úmido), estocadas em 24 aquários com volume útil de 30 L na densidade de 3,0 PL.L⁻¹, onde foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico de crescimento, composição corporal, recuperação bacteriana e histomorfometria das vilosidades intestinais. Na segunda etapa, foram utilizados 240 animais ($4,28 \pm 0,19$ cm e $1,19 \pm 0,09$ g), mantidos da etapa anterior, na densidade de 10 PL.aquário⁻¹, e foi avaliada a sobrevivência, nível de proteção relativa (NPR) após desafio bacteriano com *Aeromonas hydrophila*. A metodologia de análise de orçamentos parciais foi aplicada nos dados referentes das duas fases. Em ambas as etapas foram utilizados 6 tratamentos com 4 repetições em delineamento experimental inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ($p < 0,05$). A inclusão dos aditivos não afetou significativamente os parâmetros avaliados. Após infecção experimental, foi verificada influência positiva dos aditivos no NPR e nos lucros parciais. A partir dos resultados encontrados neste trabalho, recomenda-se a utilização do simbiótico (Active-MOS® + Bioplus 2BC®) testado, em piscicultura que tenham surtos recorrentes de bacteriose.

Palavras-chave: Reversão sexual, Larvicultura, Prebiótico, Probiótico, Simbiótico

ABSTRACT This study aimed to evaluate the use of the prebiotic Active-Mos® and two probiotics: PAS-TR® (*Bacillus cereus* – 4.0×10^8 UFC g⁻¹ and *Bacillus subtilis* – 4.0×10^8 UFC g⁻¹) and Bioplus 2BC® (*Bacillus subtilis* – 1.6×10^{10} UFC g⁻¹ and *Bacillus licheniformis* – 1.6×10^{10} UFC g⁻¹) tested separately and together, in the diet of Nile tilapia post-larvae (PL) during the sex reversal phase. The experiment was conducted in two stages: Firstly, a total of 2,160 of 3-days old post larvae (10.39 ± 0.85 mm and 12.28 ± 3.15 mg) were used, and distributed in 24 tanks of 40L each (3.0 PL.L⁻¹). Growth performance, chemical analysis of carcass, bacterial recovery and histomorphometry of intestinal villi were evaluated. For the second experiment, 240 tilapia (4.28 ± 0.19 cm e 1.19 ± 0.09 g) from the previous experiment were used and stocked at 10 PL.aquarium⁻¹. The parameters evaluated were survival and level of relative protection after bacterial challenge with *Aeromonas hydrophila*. Partial cost analysis was performed to dataset from both experiments. Six treatments with four replications in a completely randomized design were used for both experimental stages. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test ($p < 0.05$). Additives in the diet of tilapia post-larvae did not determine

significant differences in growth, survival, microbiological or histomorphometric parameters in this study. After the experimental infection, positive influence of the additive inclusion was observed on the level of relative protection and partial cost gains. Based on the results of this study we recommend the use of symbiotic (Active-MOS® +Bioplus 2BC®) in the farming of Nile tilapia PL with recurrent outbreaks of bacterial diseases in PL of Nile tilapia during the sexual reversal phase.

Key Words: Sex reversal, Larvae culture, Nutrition, Prebiotic, Probiotic Synbiotic.

INTRODUÇÃO

A tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) foi a quarta espécie mais produzida no mundo em 2014, de acordo com dados da FAO (2016). Essa produção está relacionada principalmente à sua rusticidade, rápida e alta taxa de crescimento, o que faz desta espécie uma das mais indicadas para a criação intensiva (EL-SAYED, 2006; MEURER *et al.*, 2008).

Dentre as vantagens da utilização do regime intensivo de criação estão o aumento da produtividade e minimização dos custos de produção (TOYAMA *et al.*, 2000). No entanto, em sistemas intensivos a ocorrência de doenças pode aumentar devido ao estresse e deterioração da qualidade da água (ROTTA, 2003; MELO *et al.*, 2009; e GATLIN III *et al.*, 2006).

O sistema intensivo também é utilizado na criação de larvas e pós-larvas de tilápia-do-nilo. Para esta espécie, é muito utilizada a tecnologia de reversão sexual com o hormônio 17- α -metiltestosterona, para obtenção de populações monossexo macho para a engorda, pois na espécie o macho apresenta melhor desempenho de crescimento quando comparado a fêmea (CARRASCO *et al.*, 1999; STICKNEY, 2000; PHELPS e POPMA, 2000).

A fase de reversão da tilápia-do-nilo é considerada uma das mais críticas em relação à mortalidade, e a utilização de aditivos alimentares como os probióticos e prebióticos, tem-se mostrado uma alternativa na prevenção de enfermidades a fim de aumentar a resistência imunológica dos peixes às doenças infecciosas, melhorar a eficiência alimentar, a taxa de crescimento e a sobrevivência (SAKAI, 1999; RAA, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2002; ARAÚJO, 2006; LIMA *et al.*, 2009).

Os probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos, fornecidos por meio dos alimentos, que afetam benéficamente o hospedeiro, melhorando seu balanço intestinal (FULLER, 1989). As bactérias probióticas atuam no hospedeiro estimulando o crescimento, inibindo o desenvolvimento de patógenos no trato gastrointestinal (TGI), melhorando a digestibilidade dos alimentos, aumentando a tolerância ao estresse, modulando a microbiota intestinal e estimulando a resposta imune (GATESOUBE, 1999; VERSCHUERE *et al.*, 2000; BALCÁZAR *et al.*, 2006; KESARCODI-WATSON *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2008; GHAZALAH *et al.*, 2010). Dentre os probióticos utilizados na aquicultura destacam-se os pertencentes ao gênero *Bacillus*.

Por outro lado, os prebióticos atuam indiretamente na saúde do hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e a atividade de um número limitado de bactérias no intestino (GIBSON e ROBERFROID, 1995). Estes podem ser derivados de bactérias e leveduras, como os oligossacarídeos, que são polímeros de dois a dez monômeros de monossacarídeos que têm sido utilizados com frequência na aquicultura. Dentre eles, os mananoligossacarídeos (MOS), que são extraídos da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, constituídos por uma estrutura complexa de manose fosforilada, glicose e proteína, eficaz na aglutinação de bactérias patogênicas, impedindo a colonização e proliferação destas populações no intestino (SANTURIO, 2005).

Esses MOS têm sido utilizados em dietas com o objetivo de melhorar a conversão alimentar e a saúde dos peixes, resultando em melhor ganho econômico (LI e GATLIN III, 2004). Também entre seus mecanismos de ação conhecidos estão a adsorção a bactérias patogênicas, diminuindo a aderência dessas bactérias à mucosa intestinal (FINUCANE *et al.*, 1999).

Neste sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar os parâmetros de desempenho zootécnico de crescimento, recuperação bacteriana e histomorfometria com a utilização do prebiótico Active-Mos® e dois probióticos (PAS-TR® – *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*; e Bioplus 2BC® – *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*) testados juntos e separadamente na alimentação de pós-larvas de tilápia-do-nylo durante o período de reversão

sexual, bem como, avaliar a sobrevivência e nível de proteção relativa após desafio bacteriano com *Aeromonas hydrophila* e o orçamento parcial.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Pirassununga-SP/ Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Leste/ Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA).

O experimento foi realizado em duas etapas:

1º Etapa - Avaliação de parâmetros de desempenho zootécnico de crescimento e orçamentos parciais.

2º Etapa - Infecção experimental “*in vivo*”.

Para ambas as etapas, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído por seis tratamentos com quatro repetições conforme demonstrado abaixo:

T0 – Controle: Ração Comercial;

T1 – Prebiótico I: Ração Comercial + Active-Mos®;

T2 – Probiótico I: Ração Comercial + PAS-TR®;

T3 – Probiótico II: Ração Comercial + BioPlus 2BC®;

T4 – Simbiótico I: Ração Comercial + Active-Mos® + PAS-TR®;

T5 – Simbiótico II: Ração Comercial + Active-Mos® + BioPlus 2BC®.

Diariamente, foram analisados os parâmetros de qualidade de água, oxigênio dissolvido, pH e temperatura e, semanalmente, foi determinado o teor de amônia total (Kit Labcon™). Foram realizadas trocas diárias de água para a retirada das fezes e sobras de ração, com a remoção de cerca de 20% do volume total. A entrada de água era constante e previamente aquecida à 26°C.

1° Etapa - Parâmetros de desempenho zootécnicos e orçamento parcial

Foram utilizadas 2.160 pós-larvas (PL) de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) variedade GIFT, obtidas na empresa S3 Piscicultura, em Registro, SP. Os animais com três dias após a eclosão ($10,39 \pm 0,85$ mm de comprimento total e $12,28 \pm 3,15$ mg de peso úmido) foram estocados na densidade de $3,0 \text{ PL.L}^{-1}$, distribuídos aleatoriamente em 24 aquários com volume de 30L, com aeração constante, e a alimentação fornecida após um dia de aclimação.

Preparo e fornecimento de ração

As composições das dietas estão descritas na **Tabela 1**, e foram formuladas de acordo com o nível de inclusão do prebiótico (1%) Active-Mos® (Mananoligossacarídeos – MOS) extraídos da parede celular de leveduras de cepa selecionada de *Saccharomyces cerevisiae* nos tratamentos.

Foram utilizados dois probióticos comerciais testados separadamente – PAS-TR® (*Bacillus cereus* - $4,0 \times 10^8 \text{ UFC g}^{-1}$, *Bacillus subtilis* - $4,0 \times 10^8 \text{ UFC g}^{-1}$) e Bioplus 2BC® (*Bacillus subtilis* - $1,6 \times 10^{10} \text{ UFC g}^{-1}$ e *Bacillus licheniformis* - $1,6 \times 10^{10} \text{ UFC g}^{-1}$) – incluídos na dieta de PL de tilápia-do-nilo na concentração de 0,04% da ração para os dois probióticos.

No processo de incorporação do probiótico na ração, este foi previamente pesado em balança analítica, homogeneizado em óleo de soja (2,0% da ração) e aspergido sobre a ração. Na dieta controle, adicionou-se apenas a mesma proporção de óleo de soja.

As rações foram estocadas sob refrigeração a 4°C e fornecidas seis vezes ao dia *ad libitum* durante 28 dias da fase de reversão. O hormônio esteroide 17- α -metiltestosterona foi adicionado à dieta na dosagem de 60 mg.kg^{-1} de ração (POPMA e GREEN, 1990; KUBITZA, 2000).

Tabela 1: Composição percentual e química das dietas experimentais de tilápias-do-nylo, *O. niloticus* dos grupos T0 – Controle, T1 – Active-Mos[®], T2 – PAS-TR, T3 – Bioplus 2BC[®], T4 – Active-Mos[®] + PAS-TR[®], T5 – Active-Mos[®] + BioPlus 2BC[®].

	T0	T1	T2	T3	T4	T5
Ingredientes	Níveis de Inclusão (%)					
Milho Moído	19,95	18,95	19,95	19,95	18,95	18,95
Farinha de Vísceras	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Farelo de Soja	13,43	13,43	13,43	13,43	13,43	13,43
Farelo de Trigo	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Quirera de arroz	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Farinha de peixe	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Sal	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Vitamina C 35%	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
Clor. De Colina 70%	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antioxidante	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Antifúngico	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Premix ¹	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
PAS-TR ^{®2}	-	-	0,04	-	0,04	-
Bioplus 2BC ³	-	-	-	0,04	-	0,04
ActiveMos ^{®4}	-	1,0	-	-	1,0	1,0
Composição (%)						
Fibra Bruta	2,29	1,83	1,78	2,56	2,61	2,48
Proteína Bruta	43,29	42,64	42,78	42,44	42,19	43,51
Matéria Seca	90,09	88,08	90,72	90,14	89,53	88,40
Material Mineral	11,31	10,76	11,31	11,31	10,95	11,09

¹Premix: vitamina A 12000 UI; vitD3 3000 UI; vitamina E 150 mg; vitK3 15 mg; vitB1 20 mg; vitB2 20 mg; vitB6 17,50 mg; B12 40 mg; Vitamina C 300 mg; ac. Nicotínico 100 mg; ácido pantotênico 50 mg; biotina 1 mg; ácido fólico 6 mg; antioxidante 25 mg; Cu 17,50; Fe 100 mg; Mn 50 mg; Zn 120 mg; I 0,80 mg; Se 0,50 mg; Co 0,40 mg; Inositol 125 mg; Colina 500 mg.

²PAS-TR[®]: *Bacillus cereus* - 4,0x10⁸ UFC g⁻¹, *Bacillus subtilis* - 4,0x10⁸ UFC g⁻¹

³Bioplus 2BC[®]: *Bacillus subtilis* - 1,6x10¹⁰UFC g⁻¹ e *Bacillus licheniformis* - 1,6x10¹⁰UFC g⁻¹

⁴ActiveMos[®].

Análises de desempenho zootécnico e composição corporal

No início do experimento, 100 peixes foram pesados e medidos com auxílio de balança eletrônica e paquímetro digital. Após o período de 28 dias, foram realizadas as medições de comprimento (paquímetro digital) e peso

(balança analítica) para o cálculo dos parâmetros zootécnicos: $PMF = \text{Peso médio final}$; $GP = \text{Peso final} - \text{Peso Inicial}$; $CAA = CR / GP$; $S\% = (\text{N}^\circ \text{ final de peixes} / \text{N}^\circ \text{ inicial de peixes}) \times 100$; $TCE = 100 \times (\ln \text{Peso Final} - \ln \text{Peso Inicial}) / \text{tempo}$.

Para posterior determinação da composição bromatológica da carcaça, após 28 dias de experimento, vinte peixes de cada parcela foram pesados, embalados e congelados. Posteriormente, os animais foram autoclavados e moídos utilizando-se um triturador até a obtenção de uma polpa homogênea. Esta polpa foi seca em estufa a 55°C, por 24 horas, em seguida triturada e peneirada. As análises da composição química bromatológica de Matéria Seca, Matéria Mineral, Proteína Bruta, Extrato Etéreo das amostras de carcaça foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, seguindo metodologia citada por SILVA e QUEIROZ (2002).

Análises microbiológicas

No final do experimento, dois animais por unidade experimental foram mortos por aprofundamento anestésico (benzocaína 100 mg L⁻¹) e descontaminados externamente com álcool 70%, por imersão em recipiente de vidro durante cinco minutos. Os intestinos foram retirados de maneira asséptica, pesados e macerados em tubos de ensaio estéreis e colocados em 2 mL de água destilada para análise microbiológica de colonização por bactérias totais e determinação dos gêneros bacterianos presentes.

O tubo contendo o intestino foi homogeneizado, e do material homogeneizado foram feitas diluições seriadas (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ e 10⁻⁴) e semeadas em duplicata em placas contendo meios de cultivo *Tryptic Soy Agar* (TSA) e *Bacillus Differentiation Agar* (IRIANTO e AUSTIN, 2002; CORSO e ALMEIDA, 2009; TACHIBANA *et al.*, 2011). Depois de preparadas, as placas de Petri foram transferidas para uma estufa microbiológica para incubação a 30°C por 48 horas. Após este período, foi feita contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de intestino.

Para as análises microbiológicas das rações, foram moídas amostras de 1,0 g e homogeneizadas em 9,0 mL de água estéril para realização de diluições seriadas até 10^{-4} , com semeadura de cada concentração em meio TSA (IRIANTO e AUSTIN, 2002). As placas foram incubadas em estufa a 30°C, por 24h, para posterior confirmação da colonização por bactérias.

Análises histomorfométricas

Após 28 dias, dois peixes por parcela foram mortos por aprofundamento anestésico (benzocaína 100mg L⁻¹) e coletada a porção média do intestino. As amostras foram fixadas em solução Bouin a 10% por 24 horas, em seguida foram transferidas para álcool 70% até as confecções das lâminas histológicas.

Para a confecção das lâminas, os intestinos foram cortados em segmentos de 0,5 cm, desidratados em concentrações crescentes de álcool, diafanizados em xilol e incluídos em parafina, para serem seccionados na espessura de seis micrômetros e corados por hematoxilina-eosina (HE). (GENTEN, 2008)

A obtenção das medidas de altura e altura total das vilosidades corresponderam à distância do ápice das vilosidades até o início da camada muscular e do ápice das vilosidades até o término da serosa, respectivamente. A área foi calculada a partir da diferença entre os contornos externos e internos das vilosidades totais.

As medições foram realizadas em microscopia de luz, AX10 Zeiss, câmera AxioCam MRC, com auxílio do “software” ZEN 2012.

2° Etapa - Infecção experimental “in vivo”.

Delineamento Experimental e DL50

Aleatoriamente, após a biometria e finalização da fase anterior, dez peixes (média de 4,28 ± 0,19 cm e 1,19 ± 0,09 g) de cada parcela foram

retornados aos aquários de origem para realização da infecção experimental, com o mesmo delineamento experimental da etapa anterior.

A concentração de bactérias patogênicas (*Aeromonas hydrophila*) utilizada para infectar os peixes foi de $1,6 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, determinada em ensaio prévio de DL50 (dose letal 50%) (adaptado de GILDBERG e MIKKELSEN, 1998).

Desafio Bacteriano

Os animais continuaram recebendo as respectivas rações dos tratamentos da fase anterior durante o período da infecção. Um volume de 0,1mL da solução de *A. hydrophila* foi inoculada por meio de injeção intraperitoneal (seringa 1mL *Luer Slip* e agulha 22G x 1”) e observados durante 15 dias para a verificação diária da mortalidade (ALY *et al.*, 2008). A mesma quantidade de solução salina com 0,70% de NaCl foi injetada em dez peixes provenientes dos animais alimentados com a dieta controle e, mantidos em outra parcela independente para avaliação da eficiência do procedimento de injeção.

Durante o período do desafio foi realizada a sifonagem diária para retiradas de resíduos do fundo do aquário. O diagnóstico da causa *mortis* foi por meio das observações de sinais clínicos (principalmente lesões hemorrágicas e lesões de pele típicas com erosões) e isolamento da *A. hydrophila* em cultura TSA, observadas a partir do rim cefálico.

A partir das mortalidades registradas foi calculado o nível de proteção relativa (NPR) segundo NEWMAN e MAINARICH (1982) com a fórmula:

$$NPR = 1 - (\% \text{ de mortalidade do tratamento} / \% \text{ de mortalidade do controle}) \times 100$$

Análise de orçamento parcial

A análise de orçamento parcial foi realizada de acordo com o método proposto por SHANG (1990) e TUNG (1990), que avalia apenas as mudanças nos custos e retornos com a introdução de uma nova tecnologia no sistema de

produção, neste caso, a adição dos probióticos e prebiótico de forma associada e separadamente.

Os cálculos foram feitos considerando apenas os custos parciais [ração, hormônios (hormônio+álcool), prebiótico e probióticos] no período da reversão (28 dias) para um milheiro de pós-larvas, sem considerar os investimentos ou a depreciação dos bens duráveis.

Foram utilizados os valores de consumo de ração encontrados neste trabalho e sobrevivência antes e após a infecção experimental, com intuito de criar dois possíveis cenários, com e sem um surto de bacteriose.

Foi considerado o valor médio do dólar no 1º semestre do ano de 2016 (US\$ 1,00 = R\$ 3,68) e o preço de venda do milheiro de R\$ 150,00. Sendo a *Receita Parcial* = $(\text{Preço do milheiro} \times \% \text{Sobrevivência}) / 100$ e o *Lucro Parcial* = *Receita Parcial* - *Custo Parcial*.

Análises estatísticas

Para avaliação dos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias, os dados foram submetidos aos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Os valores percentuais referentes à sobrevivência foram transformados em $\arcsen\sqrt{x}$ previamente às análises. Posteriormente, os dados foram submetidos a análise de variância de uma via (ANOVA), seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Qualidade da água

Os parâmetros de qualidade da água mantiveram-se constantes durante o período experimental. Não houve diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos com relação aos parâmetros avaliados, ficando os valores médios de pH, oxigênio dissolvido, temperatura em $6,83 \pm 0,42$, $4,99 \pm 0,28$ mg.L⁻¹ e

26,7 ±0,15, respectivamente. Os valores de amônia total mantiveram-se abaixo de 0,25 mg.L⁻¹.

Análises de desempenho zootécnico e composição bromatológica

Os valores médios são apresentados na **Tabela 2**. A inclusão de probióticos e prebióticos nas dietas não apresentou efeito significativo ($P>0,05$) em relação ao desempenho zootécnico quando comparados os animais que receberam os aditivos na dieta aos do tratamento controle. A partir da análise da composição corporal das carcaças das pós-larvas alimentados com dietas suplementadas com probióticos e prebióticos, de forma associada e separadamente, verificou-se que a composição químico-bromatológica também não foi influenciada ($P>0,05$) pela inclusão dos aditivos à ração. Os valores médios observados para extrato etéreo, proteína bruta, matéria seca e matéria mineral foram de 20,71%, 56,23%, 91,23% e 12,43%, respectivamente.

Tabela 2: Valores médios e desvios padrões dos parâmetros de desempenho zootécnico de crescimento e composição bromatológica das pós-larvas de tilápia-do-nylo alimentadas com dietas adicionadas de prebiótico e/ou probiótico no período de 28 dias.

Parâmetros	T0 - Controle	T1- Active-Mos®	T2 - PAS-TR®*	T3 - Bioplus 2BC®**	T4 - Active-Mos® + PAS-TR®	T5 - Active-Mos® + Bioplus 2BC®
PMF (g)	1,22±0,10	1,18±0,09	1,20±0,12	1,23±0,08	1,12±0,09	1,20±0,06
CF (cm)	4,34±0,21	4,28±0,11	4,34±0,20	4,42±0,15	4,08±0,23	4,26±0,14
GP (g)	1,20±0,09	1,16±0,09	1,19±0,12	1,22±0,08	1,11±0,08	1,18±0,06
TCE (% dia ⁻¹)	16,40±0,28	16,27±0,26	16,35±0,35	16,44±0,23	16,11±0,26	16,35±0,17
CA (g)	2,90±0,18	2,89±0,17	3,00±0,26	2,88±0,18	3,04±0,14	2,87±0,09
S (%)	98,63	99,18	98,08	100,00	99,18	100,00
Composição (%)						
Extrato Etéreo	20,45±1,09	19,13±1,14	21,77±0,33	19,79±1,25	21,41±1,25	21,68±1,18
Proteína Bruta	56,37±0,40	57,04±0,40	55,63±0,33	56,36±0,68	55,59±0,44	56,42±0,36
Matéria Seca	91,68±0,48	90,86±0,28	91,39±0,55	91,38±0,26	90,84±0,24	91,24±0,12
Material Mineral	12,29±0,60	13,40±0,76	11,73±0,38	12,98±0,88	12,09±0,60	12,08±0,24

Não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos após ANOVA de uma via e teste de Tukey ($p<0,05$). Onde PMF (Peso Médio Final), CF (Comprimento Final), GP (Ganho em Peso), TCE (Taxa de Crescimento Específico), CAA (Conversão Alimentar Aparente), S (Sobrevivência)

* *Bacillus cereus* - 4,0x10⁸ UFC g⁻¹, *Bacillus subtilis* - 4,0x10⁸ UFC g⁻¹

** *Bacillus subtilis* - 1,6x10¹⁰UFC g⁻¹ e *Bacillus licheniformis* - 1,6x10¹⁰UFC g⁻¹

Análises microbiológicas

Os dados referentes às contagens de unidades formadoras de colônia (UFC) estão apresentados na **Figura 1**. A contagem no número de UFC da microbiota intestinal dos peixes que receberam as dietas com aditivo probiótico e/ou prebiótico não apresentou diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos.

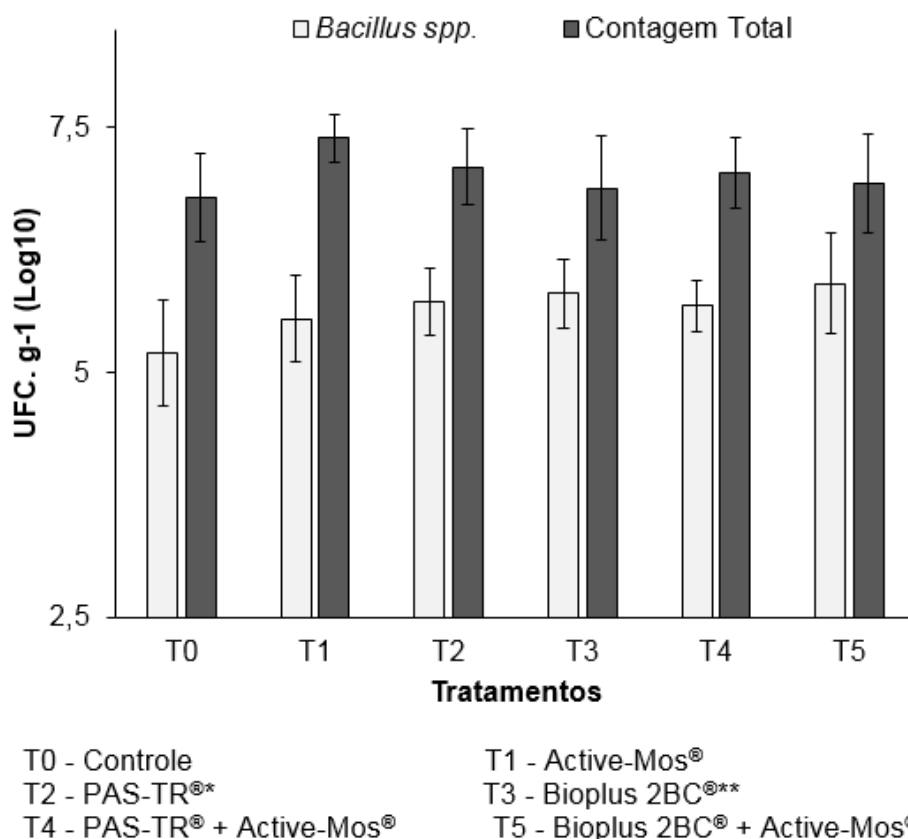


Figura 1: Contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), transformadas em log₁₀, da microbiota intestinal de formas jovens de tilápia-do-nylo *O. niloticus*, cultivadas em placas contendo *Tryptic Soy Agar* (TSA) para contagem de bactérias totais e em *Bacillus Differentiation Agar* para contagem de bactérias do gênero *Bacillus*.

* *Bacillus cereus* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹, *Bacillus subtilis* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹

** *Bacillus subtilis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g⁻¹ e *Bacillus licheniformis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g⁻¹.

Análises histomorfométricas

A área total das vilosidades, o número, altura total, altura, largura dos vilos e a espessura do epitélio do vilos apresentaram valores que variaram de $187,65 \times 10^3$ a $216,82 \times 10^3$ μm², 23 a 24 unidades, 103,68 a 119,53 μm, 99,23 a 114,10 μm, 36,73 a 41,10 μm e 17,48 a 19,21 μm, respectivamente. Essas

variáveis não foram afetadas significativamente ($P>0,05$) pelos tratamentos, sendo os valores da histomorfometria apresentados na **Tabela 4**.

Tabela 3. Histomorfometria da porção média do intestino de formas jovens de tilápias-do-nylo, *O. niloticus*.

Parâmetros	T0 - Controle	T1- Active-Mos®	T2 - PAS-TR®*	T3 - Bioplus 2BC®**	T4 - Active-Mos® + PAS-TR®	T5 - Active-Mos® + Bioplus 2BC®
AT ($\mu\text{m}^2 \times 10^3$)	193,61±42,37	216,82±712,88	193,35±43,35	188,76±23,79	203,05±31,47	200,89±51,72
N	23,43±2,98	23,25±3,08	24,06±2,56	24,06±2,01	23,29±1,80	24,69±4,74
HT (μm)	119,53±21,05	110,51±24,02	105,76±15,08	103,68±14,95	116,66±12,00	113,30±14,55
H (μm)	114,10±26,51	105,99±28,68	99,31±18,85	99,28±15,46	109,86±11,09	109,51±20,33
L (μm)	41,03±7,33	39,52±5,29	41,09±7,09	40,78±3,43	36,73±5,75	39,64±3,82
EE (μm)	19,21±3,45	18,38±2,60	18,91±3,57	18,92±1,86	17,48±2,91	18,71±2,26

Não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos após ANOVA de uma via e teste de Tukey ($p<0,05$).

Onde AT (Área Total das Vilosidades), N (Número de Vilos), HT (Altura Total do Vilo), H (Altura do Vilo), L (Largura do Vilo) e EE (Espessura do Epitélio do Vilo).

* *Bacillus cereus* - $4,0 \times 10^8$ UFC g^{-1} , *Bacillus subtilis* - $4,0 \times 10^8$ UFC g^{-1}

** *Bacillus subtilis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g^{-1} e *Bacillus licheniformis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g^{-1}

Desafio Bacteriano

Não houve mortalidade de peixes que receberam injeção apenas da solução salina. A mortalidade acumulada está apresentada na **Figura 2**. A maior mortalidade foi observada no grupo controle com 52,5%, seguido dos grupos T1-Active-Mos® com mortalidade de 40,0%; T2-PAS-TR® e T3-Bioplus 2BC® apresentaram mortalidade de 37,5%; T4-Active-Mos® + PAS-TR® com 35,0% e T5-Active-Mos® + Bioplus 2BC® com 32,5%, respectivamente. As diferenças numéricas observadas não foram significativas ($P>0,05$) entre grupos. As mortalidades ocorreram entre os sete primeiros dias, mantendo-se constantes até o 15º dia, com exceção dos tratamentos T2-PAS-TR® e T0-Controle.

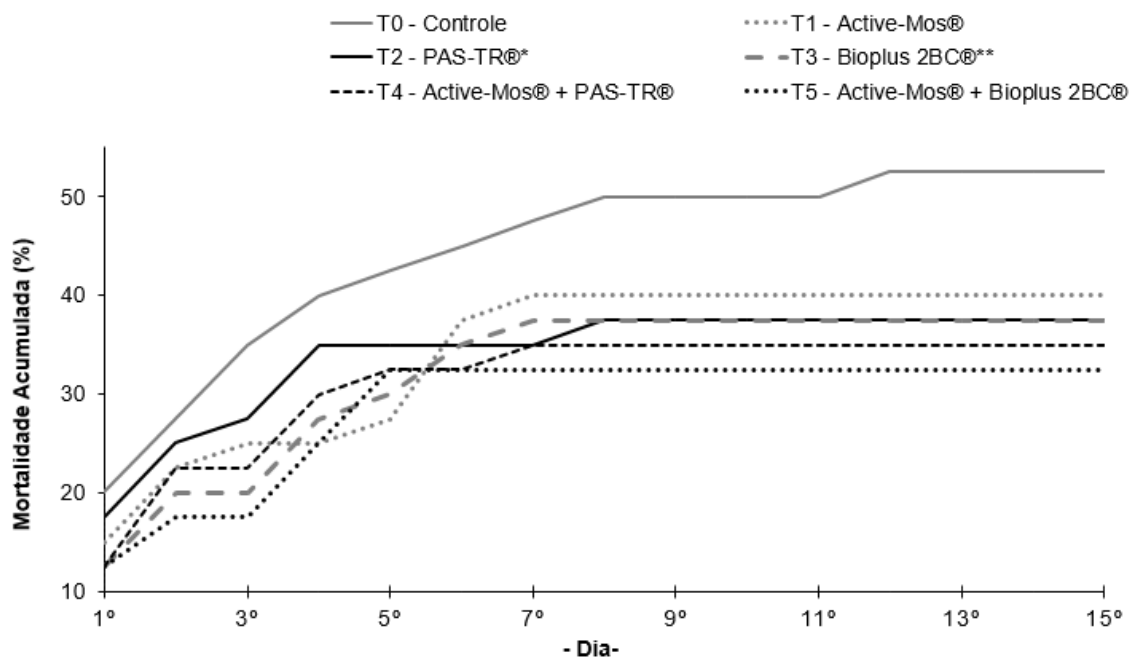


Figura 2: Mortalidade acumulada de pós larvas de tilápia-do-nylo *O. niloticus* no período de 15 dias, após infecção via injeção intraperitoneal com a bactéria *Aeromonas hydrophila*.

* *Bacillus cereus* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹, *Bacillus subtilis* - $4,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹.

** *Bacillus subtilis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g⁻¹ e *Bacillus licheniformis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g⁻¹.

No presente estudo, o maior índice de NPR foi observado no grupo cuja a alimentação foi suplementada com Active-Mos® + Bioplus 2BC (T5), com 38,10%. No entanto, diferenças significativas não foram observadas ($P > 0,05$), sendo o NPR dos demais grupos de 23,81%, 28,57%, 28,57% e 33,33% para os grupos T1 – Active-Mos, T2 – PAS-TR®, T3 – Bioplus 2BC® e T4 – PAS-TR® + Active-Mos, respectivamente (**Figura 3**).

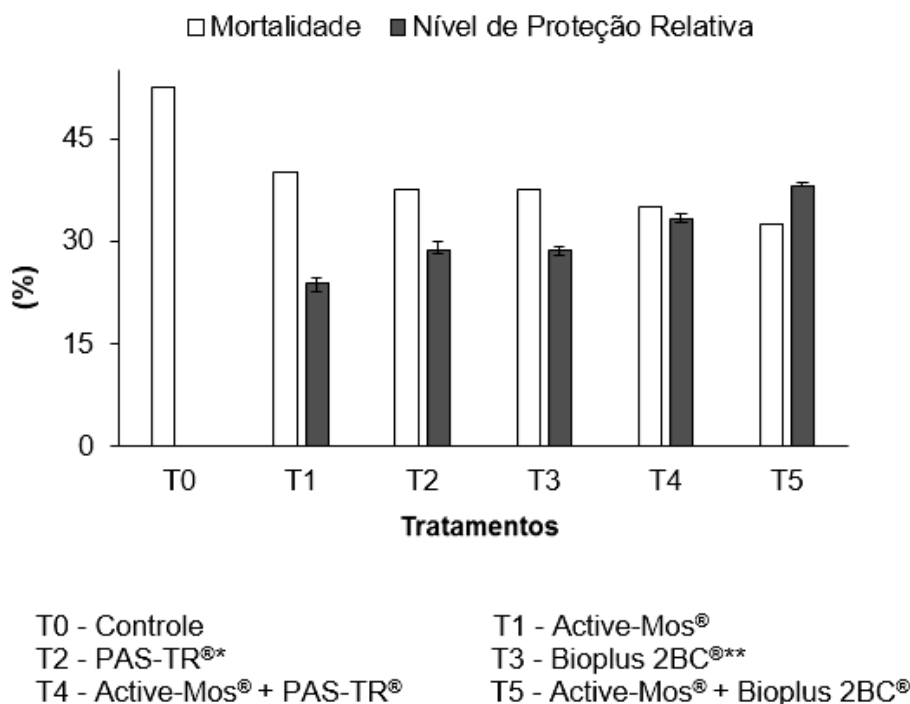


Figura 3: Nível de Proteção Relativa (NPR) após infecção de pós larvas de tilápia-do-nylo *O. niloticus*, considerando a mortalidade no tratamento controle de 52,5%.

* *Bacillus cereus* - $4,0 \times 10^8$ UFC g^{-1} , *Bacillus subtilis* - $4,0 \times 10^8$ UFC g^{-1}

** *Bacillus subtilis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g^{-1} e *Bacillus licheniformis* - $1,6 \times 10^{10}$ UFC g^{-1} .

Análise de orçamento parcial

As despesas com a alimentação para um milheiro de pós-larvas no período de reversão (28 dias) variaram de R\$ 5,97 (T0-Controle) a R\$ 6,31 (T3 - Bioplus2BC®) (**Tabela 4**). E a utilização dos aditivos na ração com base no consumo durante esse período, representou até 5,73% (T2 - PAS-TR®).

Em relação à análise de orçamento parcial, o menor lucro quando se levou em consideração o cenário sem bacteriose, foi R\$ 140,78 (T2 - PAS-TR®) e o maior de R\$ 143,85 (T3 - Bioplus2BC® e T5 - Active-Mos® + Bioplus2BC®). Quando feita a análise considerando-se um cenário com possível surto de bacteriose, o maior lucro parcial foi apresentado no T5 - Bioplus2BC® + Active-Mos® com R\$ 95,10, e o menor no tratamento sem a adição de aditivos à ração (T0 – Controle) com R\$ 65,28.

Tabela 4: Análise de orçamento parcial após o período de reversão sexual (28 dias) nos diferentes grupos testados para 1.000 pós-larvas de tilápia-do-nilo *O. niloticus*.

Tratamentos	1 kg Ração ¹	CR (kg)	Após 28 Dias	
			Custos Parciais ²	Adicional (%)
T0 – Controle	R\$ 5,66	1,054	R\$ 5,97	-
T1 - Active-Mos [®]	R\$ 5,83	1,042	R\$ 6,07	1,78
T2 - PAS-TR [®]	R\$ 5,74	1,099	R\$ 6,31	5,73
T3 - Bioplus2BC [®]	R\$ 5,74	1,087	R\$ 6,24	4,53
T4 - Active-Mos [®] + PAS-TR [®]	R\$ 5,83	1,044	R\$ 6,09	1,99
T5 - Active-Mos [®] + Bioplus2BC [®]	R\$ 5,83	1,056	R\$ 6,15	3,10

Orçamento Parcial	Sem bacteriose		Possível surto de bacteriose	
	Receita Parcial	Lucro Parcial	Receita Parcial	Lucro Parcial
	T0 - Controle	R\$ 147,92	R\$ 141,95	R\$ 71,25
T1 - Active-Mos [®]	R\$ 148,75	R\$ 142,68	R\$ 90,00	R\$ 83,93
T2 - PAS-TR ^{®*}	R\$ 147,09	R\$ 140,78	R\$ 93,75	R\$ 87,44
T3 - Bioplus2BC ^{®**}	R\$ 150,00	R\$ 143,76	R\$ 93,75	R\$ 87,51
T4 - Active-Mos [®] + PAS-TR [®]	R\$ 148,75	R\$ 142,66	R\$ 97,50	R\$ 91,41
T5 - Active-Mos [®] + Bioplus2BC [®]	R\$ 150,00	R\$ 143,85	R\$ 101,25	R\$ 95,10

¹ Preço para 1kg da ração comercial com hormônio + (Active-Mos[®] - R\$ 0,090/kg; PAS-TR[®] - R\$ 0,002/kg; Bioplus2BC[®] - R\$ 0,001/kg; Active-Mos[®] + PAS-TR[®] - R\$ 0,092/kg; Active-Mos[®] + Bioplus2BC[®] - R\$ 0,091/kg)

² Custos com ração, hormônio e aditivos no período.

* *Bacillus cereus* - 4,0x10⁸ UFC g⁻¹, *Bacillus subtilis* - 4,0x10⁸ UFC g⁻¹

** *Bacillus subtilis* - 1,6x10¹⁰UFC g⁻¹ e *Bacillus licheniformis* - 1,6x10¹⁰UFC g⁻¹

DISCUSSÃO

Os parâmetros físico-químicos da água avaliados durante o período experimental, apresentaram valores médios dentro das faixas de conforto recomendadas para a espécie (SIPAUBA-TAVARES, 1995).

A pouca influência no desempenho com a suplementação de probiótico e/ou prebiótico na dieta das PL's pode ter sido decorrente do bom estado nutricional, e do baixo desafio sanitário imposto aos animais, em razão da qualidade da água e do manejo sanitário utilizado no experimento, impossibilitando o contato efetivo dos animais com microrganismos potencialmente patogênicos no ambiente (LARA-FLORES *et al.*, 2003; LIMA *et al.*, 2003).

A influência positiva no desempenho necessita de algum estímulo estressor como encontrado por LARA-FLORES *et al.* (2003) ao trabalharem

com tilápias-do-nilo alimentadas com probióticos e estocadas em altas densidades, quando observaram maior sobrevivência em relação ao grupo controle.

No entanto, no presente estudo, os animais tiveram um bom desenvolvimento no final do período de reversão sexual independentemente da adição ou não dos aditivos à dieta, tal qual observado por POPMA e LOVSHIN (1994).

Neste trabalho, a composição químico-bromatológica da carcaça das pós-larvas não foi influenciada pela adição dos aditivos, assim como em outros trabalhos com a mesma espécie alimentadas com probióticos e prebióticos de forma associada e/ou separadamente (MÖRSCHBACHER, 2009).

A maior integridade da mucosa intestinal promovida pela ação de aditivos à dieta, resulta no aumento da área de absorção e conseqüentemente na maior retenção de nutrientes presentes no alimento (KUPERMAN e KUZ'MINA, 1994), como foi observado por MELLO *et al.* (2013), em trabalho com formas jovens de tilápias-do-nilo, onde os autores sugeriram que o grupo de peixes alimentado com ração contendo o probiótico PAS-TR[®] apresentou melhor aproveitamento da proteína em relação ao grupo controle.

Probióticos com bactérias do gênero *Bacillus* e os prebiótico à base de oligossacarídeos como os mananoligossacarídeos, quando utilizados corretamente, atuam de forma positiva no desenvolvimento gastrointestinal, contribuindo para a digestão e absorção dos nutrientes da dieta e conseqüentemente, na ativação do sistema imunológico, protegendo o animal dos desafios microbiológicos, pois proporcionam a manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal (HISANO *et al.*, 2006; JUNQUEIRA *et al.*, 2009)

Diversos estudos já demonstraram a efetividade da suplementação de dietas na microbiota intestinal de diversas espécies (RADECKI e YOKOYAMA, 1991; GOLDBERG, *et al.*, 1997). ALBUQUERQUE *et al.* (2013) avaliando a adição de *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* nas rações para alevinos de tilápia-do-nilo no final da reversão sexual, não observaram influência dos mesmos na contagem de bactérias totais, como também foi observado nesse trabalho.

Provavelmente, o tempo de utilização de probióticos tenha influenciado na contagem de bactérias totais durante o cultivo (APÚN-MOLINA *et al.*, 2009; RIDHA *et al.*, 2012), ou a presença de baixas quantidades de bactérias patogênicas no sistema de criação não permitiu a observação das diferenças.

No presente trabalho, não foram observadas diferenças significativas na histomorfometria do intestino das PL's alimentadas com rações com adição de probióticos e prebióticos. Em sistemas de criação comercial com alta densidade, em condições de baixa qualidade da água e presença constante de bactérias patogênicas, seria possível encontrar alterações morfométricas intestinais como as observadas por MELLO *et al.* (2013) utilizando o PAS-TR® na alimentação de tilápias-do-nilo.

Essas diferenças na histomorfometria das vilosidades intestinais também podem ser influenciada pela correta utilização dos aditivos, de acordo com a fase de crescimento, assim como observado por SCHWARZ *et al.* (2010) e SCHWARZ *et al.* (2011) que quando avaliaram diferentes concentrações de MOS em dietas de tilápia-do-nilo, os autores encontraram melhores resultados de densidade dos vilos, altura das vilosidades e no comprimento do intestino para formas jovens alimentadas com 1% e pós-larvas alimentadas com 0,34%, observando uma mucosa com maior integridade para esses níveis de inclusão em comparação aos demais.

Na fase de reversão sexual de tilápias-do-nilo principalmente, é comum o surgimento de infecções ocasionadas por agentes oportunistas durante o cultivo, ocorrendo grandes mortalidades e consequentes prejuízos econômicos.

Diversos estudos avaliam a adição de probióticos e prebióticos à dieta animal, e para avaliar seu custo/benefício na utilização são necessárias análises econômicas que possam auxiliar aquicultores e responsáveis técnicos na introdução dessas novas tecnologias, já que vários efeitos benéficos na redução da mortalidade dos peixes foram demonstrados em estudos científicos (LARA-FLORES *et al.*, 2003). Neste trabalho, entre os aditivos testados, o T5-Active-Mos® + Bioplus2BC® foi o que apresentou lucro parcial maior, independentemente do cenário utilizado, demonstrando a importância da profilaxia com a utilização de probióticos e prebióticos.

Em bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) expostos à infecção experimental com *Vibrio anguillarum*, GOLDBERG, *et al.* (1997) estudaram o efeito da suplementação dietária com *Carnobacterium divergens* e apesar de não constatar a inibição do crescimento *in vitro* de *V. anguillarum*, os autores observaram um aumento na resistência à doença provocada pelo agente infeccioso, bem como a colonização do intestino do alevino pelo probiótico.

Neste trabalho, todos os peixes que receberam algum aditivo na dieta obtiveram um nível de proteção relativa (NPR), ou seja, o produto protegeu de alguma forma o animal contra a bactéria patogênica. Os resultados corroboram os encontrados por ALY *et al.* (2008), onde detectaram aumento no nível de proteção relativa (NPR) após infecção com a bactéria patogênica *Aeromonas hydrophila*, trabalhando com e sem o probiótico *Bacillus pumilus* na alimentação de formas jovens de tilápia-do-nylo.

O mais alto valor de NRP foi atingido com os peixes que receberam os aditivos em simbiose (T5 - Active-Mos[®] + Bioplus2BC[®]), com 38,10%, um valor alto para melhora na sobrevivência após desafio bacteriano. Mesmo os outros tratamentos apresentaram bons resultados considerando que a infecção experimental é um procedimento invasivo, que suscita drásticas respostas fisiológicas, sendo que os agentes ultrapassam as barreiras imunes como as mucosas, escamas e pele, atingindo diretamente os órgãos da cavidade visceral.

A maior resistência dos animais que receberam os aditivos na dieta após desafio bacteriano, provavelmente, se deve à capacidade de adesão das bactérias probióticas no trato digestório, reduzindo a colonização e aderência dos organismos patogênicos (RINGO *et al.*, 2005; BALCÁZAR *et al.*, 2008), equilibrando a microbiota, e ativando o sistema imunológico, com consequente aumento dos níveis de lisozima e atividade dos macrófagos (NOGA, 1995; KIM e AUSTIN, 2006; DIAS *et al.*, 2012).

CONCLUSÕES

A inclusão de prebiótico e probióticos, de forma associada ou separadamente não influencia no desempenho zootécnico de crescimento, composição corporal e sobrevivência, microbiologia e histomorfometria intestinal, durante o período de reversão sexual de pós-larvas de tilápia-do-nilo.

O PAS TR[®], Bioplus 2BC[®] e Active-MOS[®] promovem um maior nível de proteção relativa para os peixes quando desafiados contra a bactéria patogênica, *Aeromonas hydrophila*, sendo que o fornecimento da mistura do Active-MOS[®] + Bioplus 2BC[®] resultou no melhor valor de NRP (38,10%).

O fornecimento do Active-Mos[®] + Bioplus2BC[®] na dieta proporciona o maior lucro parcial nos cenários com ou sem surto de bacteriose.

AGRADECIMENTOS

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, D. M.; MARENGONI, N. G.; BOSCOLO, W. R.; RIBEIRO, R. P.; MAHL, I.; MOURA, M. C. 2013 Probióticos em dietas para tilápia do Nilo durante a reversão sexual. *Ciência Rural*, Santa Maria, 43: 1503-1508.

ALY, S.M.; AHMED Y.A.G.; GHAREEB, A.A.A.; MOHAMED, M.M. 2008 Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potencial probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish and Shellfish immunology*. 25: 128-136.

ARAÚJO, G. S. 2006 *Efeito imunoestimulante dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha Gracilaria caudata na reversão sexual de tilápia do Nilo, Oreochromis niloticus (LINNAEUS, 1766) em condições adversas*. Fortaleza. 71f. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/1128>> Acesso em: 21 fev. 2014.

BALCÁZAR, J.L.; De BLAS, I.; RUIZ-ZARZUELA, I; CUNNINGHAM, D; VENDRELL, D; MÚZQUIZ, J.L. 2006 The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*. 114: 173–186.

BALCÁZAR, J.L.; VENDRELL, D.; BLAS, I. de; RUIZZARZUELA, I.; MUZQUIZ, J.L.; GIRONES, O. 2008 Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of fish. *Aquaculture*, 278: 188-191.

CARRASCO, L.A.P.; PENMAN, D.J.; VILLALOBOS, S.A. 1999 The effects of oral administration with 17amethyltestosterone on chromosomal synapses in *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). *Mutation Research*, 430: 87-98.

CORSO, C.R.; ALMEIDA, A.C.M. 2009 Bioremediation of dyes in textile effluents by *Aspergillus oryzae*. *Microbial Ecology*, 57: 384-390.

DIAS, D. C.; LEONARDO, A. F. G.; TACHIBANA, L.; CORRÊA, C.F.; BORDON, I.C.A.C.; ROMAGOSA, E.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. 2012 Effect of incorporating probiotics into the diet of matrinxã (*Brycon amazonicus*) breeders. *Journal of Applied Ichthyology*, 28: 40-45.

EL-SAYED, A. M. 2006 *Tilapia culture*. London: Cabi. 277p.

FAO. 2016 The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. *Contributing to food security and nutrition for all*. Rome. 200 pp.

FINUCANE, M.; SPRING, P.; NEWMAN, K. 1999 Incidence of mannose-sensitive adhesions in enteric bacteria. *Poultry Science*, Honduras, 78, p. 139.

FULLER, R. 1989 Probiotics in man and animals: A review. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.

GATESOUBE, F.J. 1999 The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180: 147-165.

GATLIN III, D. M.; LI, P.; WANG, X.; BURR, G. S.; CASTILLE, F.; LAWRENCE, A. L. 2006 *Potential Application of Prebiotics in Aquaculture*. In: VIII AVANCES

EN NUTRICIÓN ACUÍCOLA. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, 371-376.

GHAZALAH, A. A.; ALI, H. M.; GEHAD, E. A.; HAMMOUDA, Y. A.; ABO-STATE, H. A. 2010 Effect of probiotics on performance and nutrients digestibility of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed low protein diets. *Nature and Science*, 8: 46-53.

GIBSON, G. R.; and ROBERFROID, M. B. 1995 Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, Bethesda, 125: 1401-1412.

GILDBERG, A.; and MIKKELSEN, H. 1998 Effects of supplementing the feed to Atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immunostimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture*, 167: 103–113.

GOLDBERG, D.P.; GATER, R.; SARTORIUS, N.; USTUN, T.B.; PICCINELLI, M.; GUREJE, O.; RUTTER, C. 1997 The validity of two versions of the GHQ in the WHO study of mental illness in general health care. *Psychological Medicine*, 27: 191-197.

HISANO, H.; SILVA, M. D. P.; BARROS, M. M., PEZZATO, L. E. 2006 Levedura íntegra e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. *Acta Scientiarum*, 28: 311-318.

IRIANTO, A.; and AUSTIN, B. 2002 Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 25: 333-342.

JUNQUEIRA, O.M.; BARBOSA, L.C.G.S.; PEREIRA, A.A.; ARAÚJO, L.F.; GARCIA NETO, M.; PINTO, M.F. 2009 Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e Terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38: 2394-2400.

KIM D. H.; and AUSTIN B. 2006 Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish and Shellfish Immunology*, 21, 513–524.

KESARCODI-WATSON, A.; KASPAR, H.; LATEGAN, M.J; GIBSON, L. 2008 Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274: 1-14.

KUBITZA, F. 2000 *Tilápia – tecnologia e planejamento na produção comercial*. Jundiaí: Divisão de Biblioteca e Documentação, 289p.

KUPERMAN, B.I.; and KUZ'MINA, V.V. 1994 The Ultrastructure of the Intestinal Epithelium in Fishes with Different Types of Feeding, *Journal of Fish Biology*, 44: 181–193.

LARA-FLORES, M.; OLEVERA-NOVOA, M. A.; GUZMÁN-MÉNDEZ, B. E. & LÓPEZ-MADRID, W. 2003 Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216: 193-201.

- LI, P.; and GATLIN III, D. M. 2004 Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*, Amsterdam, 231: 445-456.
- LIMA, A.C.F.; PIZAURO, J.R.; MACARI, M.; MALHEIROS, E.B. 2003 Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32: 200-207.
- LIMA, P. C. W. C.; TORRES, V. M.; RODRIGUES, J. A. G.; SOUSA, J. J.; FARIAS, W. R. L. 2009 Efeito dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha parda *Spatoglossum schroederi* em juvenis de *Litopenaeus vannamei*. *Revista Ciência Agronômica*, 40: 79-85.
- MELLO, H.; MORAES, J. R. E.; NIZA, I. G.; MORAES, F. R.; OZÓRIO, R. O. A.; SHIMADA, M. T.; ENGRACIA FILHO, J. R.; CLAUDIANO, G. S. 2013 Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33: 724-730.
- MELO, D. C.; OLIVEIRA, D. A. A.; MELO, M. M.; JÚNIOR, D. V.; TEIXEIRA, E. A.; GUIMARÃES, S. R. 2009 Perfil proteico de tilápia nilótica chitralada (*Oreochromis niloticus*), submetida ao estresse crônico por hipóxia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61: 1183-1190.
- MEURER, F.; HAYASHI, C; BARBERO, L.M.; SANTOS, L.D.; BOMBARDELLI, R.A.; COLPINI, L.M. 2008 Farelo de soja na alimentação de tilápias-do-nilo durante o período de reversão sexual. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37: 791-794.
- MÖRSCHBACHER, E. F. 2009 *Mananoligossacarídeo durante a reversão sexual de tilápia do Nilo*. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná – PR. 45p.
- NOGA, E.J. 1995 Fish Disease. *Diagnosis and Treatment*, Mosby. p. 367.
- OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO J.H.A.; SAAD, S.M.I. 2002 Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 38: 1-21.
- PHELPS, R. P.; and POPMA, T. J. 2000 Sex Reversal of Tilapia. In: COSTA-PIERCE, B. A.; RAKOCY, J. E. (Ed). *Tilápia aquaculture in the Americas*. Louisiana: The Aquaculture Society. 2: 34-59.
- POPMA, T. J.; and GREEN, B. W. 1990 *Manual de producción acuicola: reversion sexual de tilapia em lagunas de tierra*. Arburn: Asociación Americana de Soya. 35p.
- RAA, J. 2000 The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. In: AVANCES EM NUTRICIÓN ACUÍCOLA. MEMORIAL DEL V SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA. 7., 2000, Yucatan. *Anais eletrônicos...* Yucatan: Mérida, 2000. 47-56.

- RADECKI, S. V.; YOKOYAMA, M. T. 1991 Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition. In: MILLER, E.R.; DUANE, E.U.; LEWIS, A.J. *Swine nutrition*. 439-447.
- RINGO E.; SCHILLINGER, U.; HOLZAPFEL, W. 2005 Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from aquatic animals and the use of lactic acid bacteria in aquaculture. *Biology of Growing Animals*, Chapter 18: 418-453.
- ROTTA, M. A. 2003 *Utilização do ácido ascórbico (vitamina C) pelos peixes*. EMBRAPA Pantanal, 54 p.
- SAKAI, M. 1999 Current research status of fish immunoestimulants. *Aquaculture*, 172: 63-92.
- SANTURIO, J. 2005 *A hora e a vez dos prebióticos*, Disponível em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br/PortalGessulli/WebSite/Noticias/a-hora-e-a-vezdosprebioticos,14419.aspx>, 2005. Acesso em: 08/11/2015.
- SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; MICHELATO, M.; GUALDEZI, M. C. 2010 Mananoligossacarídeo em dietas para juvenis de tilápias do Nilo. *Acta Scientiarum. Animal Science*, Maringá, 32: 197-203.
- SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; GUALDEZI, M. C.; LIMA, P. A. G. 2011 Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápias. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 40: 2634-2640.
- SHANG, Y.C. 1990 Partial budget analysis. In: *Aquaculture Economic Analysis: An Introduction*. *The World Aquaculture Society*, Honolulu, 2: 47-49.
- SILVA, D.J.; e QUEIROZ, C. 2002 *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 235p.
- STICKNEY, R.R. 2000 Status of research on tilapia. In: COSTAPIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E. (Eds.). *Tilapia aquaculture in the Americas*. Louisiana. **World Aquaculture Society**, 2: 21-33.
- TACHIBANA, L.; DIAS, D.C.; ISHIKAWA, C.M. 2011 Probiotic in the feed of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) during sex reversal: zootechnical performance and the recovery of probiotic bacteria in the intestine. *Bioikos*, 25: 25-31.
- TOYAMA, G.N; CORRENTE, J.E.; CYRINO, J. E. P. 2000 Suplementação de vitamina C em rações para reversão sexual da tilápiado-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Scientia Agricola*, 57: .221-228.
- TUNG, N.H. 1990 Orçamento parcial: caracterização. In: TUNG, N.H. *Planejamento e controle financeiro das empresas agropecuárias*. São Paulo: Edições Universidade Empresa, 271-278.
- VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. 2000 Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 655-671.

WANG, Y.B.; TIAN, Z.Q.; YAO, J.T.; LI, W.F. 2008 Effect of probiotic faecium, on tilapia (*Oreochromis niuloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, 277: 203-207.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A busca pelo aumento na eficiência alimentar e na taxa de crescimento tem sido objeto de estudos de diversos trabalhos. Com a pressão da população para redução de utilização de produtos químicos nas criações animais, o fornecimento de aditivos alimentares vem sendo intensamente estudado a fim de garantir maior segurança alimentar através da melhora na resposta do sistema imune, desempenho produtivo e sobrevivência dos animais produzidos. Uma das grandes vantagens de se utilizar os prebióticos e probióticos é a segurança em relação aos resíduos químicos.

A utilização de prebióticos e probióticos é bastante controversa, pois os trabalhos científicos divergem em relação aos resultados obtidos dos diversos parâmetros de desempenho zootécnico de crescimento, imunologia e morfologia intestinal. No entanto, cada sistema de criação utilizado tem suas particularidades, como qualidade da água e presença de bactérias patogênicas. E cada probiótico (cepa) e prebiótico pode ter um efeito distinto sobre estas criações e devem ser utilizados de forma diferenciada.

Com a intensificação dos sistemas aquaculturais as incidências de doenças são favorecidas e os suplementos apresentam-se como alternativa viável em substituição aos antibióticos e quimioterápicos por atuarem na resposta imune inespecífica, reduzindo a ocorrência de mortalidades e, conseqüentemente, os prejuízos econômicos ao produtor devido ao surgimento de doenças durante a fase de reversão sexual. Por isso, ressalta-se a importância de estudos como este para a avaliação da eficácia desses aditivos na melhoria da saúde animal e também do desempenho produtivo.