

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
ÁREA DE AGRÁRIAS  
CURSO DE ZOOTECNIA**

**PÂMELA ARIEL JURGE MARIANO**

**PROBIÓTICO NA DIETA DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**DOIS VIZINHOS**

**2014**

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO DE ZOOTECNIA**

**PÂMELA ARIEL JURGE MARIANO**

**PROBIÓTICO NA DIETA DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**DOIS VIZINHOS**

**2014**

PÂMELA ARIEL JURGE MARIANO

**PROBIÓTICO NA DIETA DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)**

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de ZOOTECNISTA

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado

DOIS VIZINHOS

2014

Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Dois Vizinhos  
Gerência de Ensino e Pesquisa  
**Curso de Zootecnia**



**TERMO DE APROVAÇÃO**  
**TCC**

**PROBIÓTICO NA DIETA DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)**

Autor: Pâmela Ariel Jurge Mariano  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADA em    de    2014.

---

**Prof. Dr. Cleverson Busso**

---

**Dra. Maria Antônia Michels de Souza**

---

**Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado**  
**(Orientador)**

Dedico este trabalho aos meus pais Murilo e Simone que em primeiro lugar me deram a oportunidade de entrar em uma Universidade e que são as pessoas mais importantes da minha vida e sempre me apoiaram em tudo que precisei pra chegar até o final do curso.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter me concedido a honra de entrar numa Universidade no qual é conhecida e de grande importância, e que fornece o curso de Zootecnia que é a minha paixão.

Aos meus pais Murilo e Simone, e minhas duas irmãs Graziela e Ana Laura pela força e toda confiança que depositaram em mim para que eu conseguisse chegar até onde estou agora, e sempre me apoiando em momentos difíceis da minha vida.

Ao João Felipe que sempre esteve ao meu lado e que me ajudou de alguma forma em meu experimento.

Ao meu orientador Ricardo Yuji Sado pela oportunidade de realizar esse trabalho e pela orientação propriamente dita.

Ao professor Cleverson Busso por toda a ajuda que me forneceu no experimento e a pela sua paciência.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pelo curso de Zootecnia.

As minhas amigas Thaiz Matoso Tireli e Francieli Baioco Sales pela amizade e a parceria nas análises do meu experimento.

Aos meus colegas do grupo da Unepe do setor de Piscicultura, Francieli, Fernanda, Valfrides, Jaqueline e Maria Antônia que me apoiaram em tudo que precisei para realizar esse trabalho.

As minhas colegas de graduação Lilian, Érica e Débora que sempre esteve comigo nessa caminhada.

“O mundo tem muitas coisas boas a oferecer para quem tem a ousadia  
de buscar.”

Zibia Gasparetto

## RESUMO

MARIANO, PAMELA A. J. **Probiótico na dieta de carpa comum (*Cyprinus carpio*)**. 2014. 36 f. TCC (Trabalho de conclusão de curso de Bacharelado em Zootecnia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2014.

A aquicultura vem apresentando um crescimento significativo nesses últimos anos. Sistema intensivo de produção de peixes representa o aumento da densidade populacional dos animais somado ao manejo intensivo, apresenta certo nível de estresse, aumentando a susceptibilidade a doenças e queda no desempenho zootécnico. Além disso, existem boas práticas de manejo, uma delas inclui o uso de aditivos que melhore a saúde e o desempenho do animal. Este estudo determinou o efeito da suplementação de um probiótico comercial a base de *Bacillus subtilis* na dieta sobre o desempenho de carpa comum. Os alevinos ( $0,35 \pm 0,09g$ ) foram distribuídos em doze aquários com 60 L de capacidade (30 peixes em cada) e alimentados por 45 dias com dietas práticas contendo 0,0 (controle) e 0,15%; 0,30% e 0,45% de inclusão do probiótico em delineamento inteiramente casualizado ( $n=3$ ) e avaliados quanto ao desempenho. A suplementação do probiótico na dieta não apresentou efeito ( $p>0,05$ ) sobre os parâmetros de desempenho, análises bromatológicas de carcaça e nem o número de unidades formadoras de colônia (UFC/g) em relação ao grupo controle, mas apresentaram efeito significativo ( $p<0,001$ ) na altura das vilosidades e espessura da camada muscular. Resultados contraditórios mostram que estudos sobre o uso de probióticos na nutrição de peixes ainda são necessários para elucidar seus mecanismos de ação.

**Palavras-chave:** *Bacillus subtilis*; Morfometria intestinal; Probióticos; Carpa comum (*Cyprinus carpio*).



## ABSTRACT

MARIANO, PAMELA A. J. **Probiotics in fish diet of common carp (*Cyprinus carpio*)**. 2014. 36 f. TCC (Trabalho de conclusão de curso de Bacharelado em Zootecnia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2014.

Aquaculture has shown significant growth in recent years. Intensive fish production systems is increasing population density of animals in a intensive management. Consequently, certain level of stress has increased, as well, and so, the susceptibility to diseases has decreased the performance. Furthermore, there are good management practices; one of them includes the use of additives to improve the health and performance of the animal. The aim of this study was to determine the effect of supplementation of a commercial probiotic *Bacillus subtilis* on the basis of the diet on the performance of the common carp. Fingerlings ( $0.35 \pm 0.09$  g) were distributed in twelve 60-liter tanks (30 fishes each) and fed for 45 days with ration containing 0.0 % probiotic (control), 0.15%; 0.30% and 0.45% with probiotic addition in a completely randomized experiment ( $n = 3$ ) and evaluated as for the performance. .The supplementation of probiotics in the diet had no effect ( $p > 0.05$ ) on performance parameters, chemical analysis of carcass and not the number of colony forming units (UFC / g) compared to the control group. However, significant effect ( $p < 0.001$ ) in villus height and in thickness of the muscular layer was observed. Contradictory results show that studies concerning the use of probiotics in fish nutrition are still needed to clarify their mechanisms of action.

**Keywords:** *Bacillus subtilis*; Intestinal Morphology; Probiotics; Common carp (*Cyprinus carpio*).

## Sumário

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....                                  | <b>9</b>  |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....                                   | <b>11</b> |
| 2.1 OBJETIVO GERAL .....                                   | 11        |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                            | 11        |
| <b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....                       | <b>12</b> |
| 3.1 SITUAÇÃO DA AQUICULTURA NO BRASIL .....                | 12        |
| 3.2 CARPA COMUM ( <i>Cyprinus carpio</i> ) .....           | 13        |
| 3.3 PROBIÓTICOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES .....                | 13        |
| 3.4 BACTÉRIA PRÓBIOTICA ( <i>Bacillus subtilis</i> ) ..... | 16        |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....                          | <b>17</b> |
| 4.1 ARRANJO EXPERIMENTAL .....                             | 18        |
| 4.2 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE DESEMPENHO .....           | 19        |
| 4.3 ANÁLISES BROMATOLÓGICAS .....                          | 20        |
| 4.4 AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTESTINAL .....               | 20        |
| 4.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO INTESTINO .....            | 21        |
| 4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICA .....                             | 22        |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....                     | <b>22</b> |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....                                   | <b>28</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Em 1968 iniciou-se a produção brasileira aquícola, no qual foram atribuídos com menos de 0,5 toneladas. A partir disso, a aquicultura nacional evoluiu com um crescimento gradual, chegando em 2003 o pico de produção com 273.268 toneladas. No ano de 2004 e 2005 houve uma pequena queda, mas em 2008, 2009 e 2010 a produtividade retomou seu crescimento respectivamente com 365.367 toneladas, 415.649 toneladas e 479.398 toneladas (FAO, 2010).

Os peixes representaram no ano de 2009, 16,6% do consumo da população de proteína animal e 6,5% de toda a proteína consumida (FAO, 2012). Somado a isso a piscicultura contribui com uma boa alternativa de proteína de origem animal com um elevado valor biológico, baixo custo e apresenta uma alta fonte de renda para produtores, principalmente se optar por métodos alternativos de nutrição (FERREIRA et al., 1999).

O consumo mundial de peixe alcançou níveis históricos no ano de 2010, conforme o relatório da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO), chegando a uma média de 17 Kg por pessoa, com uma taxa de 7% anual de crescimento nesses últimos anos. No Brasil, o consumo de peixes no ano 2009 atingiu um consumo de 9 kg por pessoa, próximo aos valores recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), 12 kg por pessoa. É necessário destacar que este cenário de produção vem acompanhado de uma exigência do mercado consumidor por qualidade cada vez maior (FAO, 2010).

Com o aumento da produtividade no setor de peixes observa-se uma intensificação da piscicultura no Brasil, tendo consequências o aumento no número de doenças nos sistemas intensivos de produção (COSTA e CYRINO, 2006). Decorrente disso existe uma tendência na piora qualidade da água por elevadas densidades de estocagem de peixes prejudicando a saúde desses animais confinados (CEROZI, 2012). Nesses sistemas intensivos de criação são diferenciados pelo adensamento populacional, podendo atingir até 60 kg m<sup>3</sup> (OZÓRIO et al., 2004).

A concentração dos animais e o manejo intenso provocam um estado de estresse nos peixes prejudicando o sistema imunológico somado ao manejo

provocando alta mortalidade de animais e levando grandes prejuízos ao produtor (BARCELLOS et al., 2000). Dessa forma temas de biossegurança tornam-se um dos principais gargalos nesse processo produtivo de criação de peixes (VARGAS, 1998).

O termo Biosseguridade está relacionado à diminuição e a prevenção de doenças bacterianas, virulentas e parasitárias no sistema de produção de peixes (MOSS et al., 1998).

A indústria aquícola utiliza produtos antimicrobianos para o controle de doenças bacterianas nos peixes, assim como ocorre na produção de aves e mamíferos. Antibióticos são fornecidos aos animais com função profilática contra agentes bacterianos, e com dosagens subterapêuticas com função de promotores de crescimento, mas essa técnica pode promover o desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes a esses produtos, um fenômeno já identificado no Brasil (COSTA e CYRINO, 2006).

A adoção das Boas Práticas de Manejo (BPMs), no qual se refere à conscientização de técnicas adequadas para produção de alimento para consumo humano (BOYD e QUEIROZ, 2004), consiste em reduzir ou não utilizar os antimicrobianos durante o ciclo de produção através de substâncias capazes de aumentar sua resistência aos agentes patogênicos, sendo uma opção segura ao uso dos antibióticos e quimioterápicos na piscicultura (ANDERSON, 2004; KUMARI e SAHOO, 2006). Dentre as substâncias utilizadas na alimentação de peixes com capacidade de promover a eficiência alimentar e a taxa de crescimento, os probióticos aparecem como alternativa promissora no processo produtivo de peixes.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de um probiótico comercial a base de *Bacillus subtilis*, sobre o desempenho produtivo, a microbiota e na morfologia intestinal de alevinos de carpa comum (*Cyprinus carpio*).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a eficácia do probiótico sobre o desempenho dos animais.
- ✓ Verificar as possíveis alterações morfológicas nas vilosidades intestinais da Carpa comum, com o uso do aditivo probiótico na ração;
- ✓ Verificar a colonização do aditivo probiótico na microbiota intestinal do peixe.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 SITUAÇÃO DA AQUICULTURA NO BRASIL

A aquicultura no Brasil nos últimos anos teve um desenvolvimento significativo ocupando lugar de destaque nos produtos de exportação (CAMARGO e POUHEY, 2005), e com esse desenvolvimento no Brasil proporcionou um crescimento na produção da piscicultura desencadeando melhores canais de distribuição e abastecimento alimentar mundial de peixe (FAO, 2012).

Segundo dados da Fao (2006) o Brasil a cada ano vem se destacando em posições no ranking internacional, em 1994, era o 32º em produção aquícola e o 26º em termos de valores. Em 2004 o Brasil ocupava o 18º lugar no ranking mundial de produção aquícola com 0,5% da produção mundial e o 12º em termos de receitas geradas com 1,4% do total, em 2004, a aquíicultura continental foi a principal responsável por 67% (180.731 toneladas) de toda produção aquícola nacional, principalmente no cultivo de tilápias, carpas e tambaquis que produziram no total de 140 mil toneladas (78% da produção continental e geração de US\$ 647 milhões). A região Sul liderou a produção da aquíicultura continental em 2004, com a 34%, baseada na produção de carpas e tilápias (OSTRENSKY et al., 2008). Já no de 2010 o cenário na produção da aquíicultura continental a produção foi de 394.340 toneladas, ou seja, 82,25% da produção do país (FAO, 2010).

Segundo dados da Fao (2013), no ano de 2013 as previsões de consumo de pescado aproximaram-se de 20kg por habitante ano com produtividade estimada de mais de 160 milhões de toneladas. O Brasil possui grande potencial para a aquíicultura, pelas suas condições naturais, pelo clima favorável e também sua matriz energética. Este potencial para produção está relacionado à sua extensão costeira atingindo oito mil quilômetros, à sua zona econômica exclusiva de 3,5 milhões de km<sup>2</sup> e à sua dimensão territorial, disponibilizando aproximadamente, 13% da água doce renovável do planeta para a produção de peixes (ROCHA et al., 2013).

### 3.2 CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)

Segundo Graeff e Mondardo (2006) a aquicultura vem se destacando nos últimos anos com um elevado crescimento de variedades de espécies aquáticas que proporcionam proteína de origem animal, e uma das espécies que está agregando valor na aquicultura é a criação de carpas. Sendo a carpa comum, (*Cyprinus carpio*), que corresponde à espécie pertencente ao grupo de peixes mais cultivados no mundo, e em segundo lugar mais cultivado no Brasil as tilápias (OSTRENSKY et al., 2008).

A produção de carpas teve um crescimento de 7.490.870 toneladas em 1993 para 16.692.147 toneladas em 2002, representando um grupo de peixes de água doce mais produzidos no mundo, tendo um crescimento nos últimos anos da ordem de 10%. Esse índice de produção é responsável aproximadamente US\$ 17 bilhões no movimento financeiro internacional. Como exemplo a carpa comum (*Cyprinus carpio*) que teve um aumento no seu crescimento de 1.535.905 toneladas no ano 1994, para 3.202.561 toneladas em 2002 (FAO, 2006).

Os peixes popularmente conhecidos como carpas são espécies da família Cyprinidae, a carpa comum de água doce é originária da Ásia, mas foi introduzida no Brasil em 1882, e é representada por três variedades: *C. carpio communis*, *C. carpio specularis* e *C. carpio konalli* (TAMASSIA et al, 2004). A carpa-comum é uma espécie gregária amplamente utilizada na piscicultura mundial (FERREIRA, 2009). Esta espécie, a nível comercial, cultiva-se em sistemas intensivos ou semi-intensivos, no qual as exigências nutricionais são satisfatórias mediante dietas artificiais completas (GRAEFF e MONDARDO, 2006).

### 3.3 PROBIÓTICOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES

A alimentação dos peixes e seus hábitos alimentares atuam sobre o seu crescimento, reprodução, comportamento, funções fisiológicas, saúde e integridade estrutural. Deste modo, o sucesso da produção depende de um manejo adequado da qualidade da água e nutrição dos animais (CYRINO et al., 2010).

Imunoestimulantes possuem efeitos satisfatórios na nutrição dos animais, como nos suínos, aves, bovinos e até mesmo no ser humano e tem sido bem

difundido e documentado. No entanto, na alimentação de peixes ainda é um conceito relativamente novo (FARZANFAR, 2006), nesse caso na utilização em peixes muitas vezes depende das condições do ambiente, pois diversos fatores podem afetar o desempenho zootécnico dos animais, mascarando a ação dos imunostimulantes como exemplo os probióticos (MELLO, 2012).

Probióticos são aditivos alimentares à base de microrganismos vivos (MELLO et al., 2013). Os microrganismos probióticos modificam favoravelmente a microbiota intestinal e prevalece uma digestão adequada, inibem o crescimento de bactérias patogênicas, aumentam a função imunológica e a resistência à infecção (MORAIS e JACOB, 2006), portanto o uso de imunostimulantes tem sido acrescentado na ração, no intuito de redução nos níveis de compostos antimicrobianos (antibióticos) utilizados na aquicultura para o controle de enfermidades (MELLO, 2012).

Os probióticos podem ser benéficos de várias formas atuando separadamente ou em combinação de duas ou mais espécies de microrganismos (NAKANDAKARE, 2010), ou associado a um prebiótico que são definidos como ingredientes nutricionais não digeríveis que afetando benéficamente o hospedeiro (GIBSON e ROBERFROID, 1995). pois adicionalmente, os probióticos competem com as bactérias indesejáveis por nutrientes disponíveis no trato digestivo, e o hospedeiro fornece as quantidades de nutrientes que as bactérias intestinais utilizam, e essa relação simbiótica entre o prebiótico e o probiótico impede uma produção excessiva de nutrientes, a qual favoreceria o estabelecimento de competidores com potencial patogênico ao hospedeiro (SAAD, 2006).

Durante as décadas de 1970 e 1980, foram realizados muitos experimentos com a utilização de microrganismos vivos viáveis, no qual, mais de 50% das pesquisas foram relatados microrganismos benéficos. Os resultados atuais indicam a eficácia do uso de probióticos como ativadores de crescimento durante fases específicas da criação (RIBEIRO et al., 2008).

A necessidade desses experimentos com probióticos tem como principal finalidade de uma aquicultura sustentável, utilizando o aditivo em organismos aquáticos como promotores de crescimento com objetivo de melhorar a saúde dos animais (CRUZ et al., 2012). Um aditivo, para ser considerado probiótico, deve apresentar algumas propriedades, tais como: 1) exercer efeito significativo



beneficiando à saúde do hospedeiro; 2) apresentar grande número de células viáveis e 3) permanecer viável no trato gastrointestinal do hospedeiro por longos períodos (SAARELA et al., 2000). Considera-se que em animais aquáticos a microbiota intestinal pode sofrer alterações rapidamente em função do constante fluxo de microrganismos provenientes do alimento e ambiente (ABIDI, 2003).

Ainda que os mecanismos de ação dos probióticos ainda não estão totalmente elucidados, especula-se que os benefícios gerados pela utilização destas substâncias, as atividades dos probióticos pode ser dividido em efeitos nutricionais, fisiológicos e antimicrobianos (MELLO, 2012).

Um dos modos de ação é por exclusão competitiva em que os probióticos passam a competir com os microrganismos patogênicos por espaços intracelulares no trato gastrointestinal, provocando uma barreira física (BÁLCAZAR, 2006), impedindo a livre colonização dos mesmos, protegendo as vilosidades e permitindo a regeneração da mucosa (PETRI, 2000). A ocorrência de um desequilíbrio a favor de bactérias patogênicas pode ter um efeito prejudicial ao animal e causar uma infecção intestinal, comprometendo a digestibilidade e absorção dos nutrientes (ARAUJO et al., 2007).

Outro modo de ação é síntese de bacteriocinas. Bacteriocinas são identificadas como substâncias de natureza proteica como alguns ácidos orgânicos produzidos por bactérias, e são capazes de inibir mesmo em baixas concentrações a multiplicação de determinadas bactérias infecciosas (RILEY, 1998).

A produção de ácidos orgânicos pelas bactérias probióticas, tem por finalidade reduzir o pH do trato gastrintestinal (GARCIA et al., 2006). Essa ação através da produção de compostos antimicrobianos, tais como a bacteriocinas melhora o ambiente microbiano gastrointestinal por adesão à mucosa intestinal, competindo por nutrientes, estimulando respostas imunes intestinais e melhorando a digestão e a absorção de nutrientes (CHENG et al., 2014; LLEWELLYN et al., 2014), reduzindo os riscos de doenças e estimula o sistema imunológico do animal. (GAGGIÀ et al., 2010).

O terceiro modo de ação dos probióticos é a capacidade de modulação da resposta imune do hospedeiro, bactérias probióticas estimulam o sistema

imunológico do hospedeiro, aumentando o número e a atividade de células fagocíticas (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

Diversas espécies de microrganismos têm sido utilizadas como probiótico, incluindo bactérias do gênero *Bacillus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* e algumas leveduras como o *Saccharomyces*.(BRITO et al.,2013)

Segundo Mello et al. (2013), os microrganismos probióticos devem ser aptos a colonizar o intestino do animal, se adaptar à especificidade física, química e biológica da microbiota intestinal, resistir às ações da bile e das enzimas digestivas e sistema imune do hospedeiro. Diversos fatores como a idade do animal, tipo de probiótico, viabilidade dos microrganismos, condições de manejo e desafio sanitário podem influenciar a eficácia dos probióticos (SOUZA et al., 2010).

### 3.4 BACTÉRIA PRÓBIOTICA (*Bacillus subtilis*)

Atualmente o gênero *Bacillus* compreende a maioria das espécies utilizadas como probióticos na aquicultura, são bactérias aeróbicas, Gram-positivas, em forma de bastão, formadoras de esporos podendo ser encontradas no solo, poeira, água e ar (MELLO, 2012). Não são consideradas bactérias autóctones, ou seja, originadas no próprio trato gastrointestinal do animal, mas apesar disso, muitos bacilos apresentam duplo ciclo de vida envolvendo germinação de esporos e proliferação, sob condições adversas, permitindo sua sobrevivência no meio ambiente e no intestino de animais, permitindo este ciclo a base do seu efeito probiótico (HONG et al., 2005).

Diversas espécies de *Bacillus* foram isoladas de peixes e crustáceos, destacadamente o *Bacillus subtilis*. (GATESOUPE, 1999). O *B. subtilis* encontra-se em todo ambiente, principalmente no solo, apresenta forte ação bactericida e fungicida, e é um ingrediente comum nas misturas de probióticos indicados para o uso em animais aquáticos (MELLO, 2012). Podem atuar na melhoria da qualidade de água, oxidando a matéria orgânica (ALBUQUERQUE et al., 2013). Apresentam capacidade de esporular se mantendo estável durante um período maior no trato gastrointestinal dos animais (HUANG et al., 2008).

Segundo Cerozi (2012), produtos comerciais contendo a bactéria *B. subtilis*,

são aditivos probióticos acrescentados na alimentação de animais de produção, baseados em esporos viáveis de cepa C-3102 de *B. subtilis*, e esses esporos são capazes de diminuir os agentes patogênicos no intestino e de favorecer o crescimento de bactérias benéficas como o *Lactobacillus* sp.

Segundo Aly et al. (2008) *B. subtilis* na alimentação da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) foi eficaz em aumentar a imunidade, a atividade da lisozima, responsável pelo sistema imunológico do animal.

E de acordo com o trabalho de Tachibana et al., (2011) foi possível a detecção de *B. subtilis* viáveis em intestinos da tilápia-do-Nilo suplementadas com dietas contendo o probiótico. E na utilização de cepas de *Bacillus toyoi* e *Bacillus subtilis* promoveu o aumento da imunidade em juvenis de tilápia-do-Nilo alimentado somente com a dieta extrudada (NAKANDAKARE, 2013).

Nos últimos anos a cadeia de produção animal teve um avanço significativamente devido à evolução dos estudos de nutrição, sanidade melhoramento genético, e conforto animal, devido a várias tecnologias que surgiram para suprir as necessidades de proteína animal (FERREIRA et al., 2013). O conhecimento sobre o sistema digestório dos peixes tem grande relevância para a formulação e elaboração de dietas adequadas que possam atender as exigências nutricionais dos animais, garantindo uma melhoria no desempenho e saúde dos mesmos. Entretanto, os peixes apresentam diferentes hábitos alimentares que conduzem à exploração diversos itens alimentares disponíveis, sendo naturais ou industrializados (ROTTA, 2003). Vários estudos vêm sendo realizados com intuito de correlacionar características estruturais, anatômicas e histológicas do aparelho digestório em peixes com seus hábitos e comportamentos alimentares, inclusive, a respeito da nutrição de espécies com alto valor comercial (FILHO et al., 2001). Probióticos tem como alternativa na alimentação de peixes promovendo melhores resultados em seu desempenho e benefícios em seu estado de saúde

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado nas dependências da Unidade de Ensino e Pesquisa de Piscicultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Dois Vizinhos.

#### 4.1 ARRANJO EXPERIMENTAL

Espécimes de carpa comum ( $0,35 \pm 0,09$  g) provenientes de piscicultura comercial foram mantidos nas instalações da UNEPE – Piscicultura. Para o manejo inicial, os peixes foram sedados em eugenol (75mg/L), pesados em balança eletrônica (0,01 g), medidos ( $2,61 \pm 0,07$ ), separados em lotes homogêneos de 30 peixes e distribuídos em unidades experimentais compostas por aquários com capacidade para 60 L cada. As unidades experimentais foram abastecidas por um sistema fechado de circulação de água com filtragem biológica, temperatura controlada e aeração forçada a partir de compressor e difusores de ar, compondo um ensaio em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos: controle (sem adição de probiótico); 0,15%; 0,30% e 0,45% de inclusão de probiótico comercial CALSPORIN<sup>®</sup>10 (*Bacillus subtilis*-  $1 \times 10^9$ UFC/g) (n=3). Foi confeccionada uma dieta extrudada basal atendendo as exigências nutricionais da espécie. Para elaboração das dietas, uma ração comercial (Tabela 1) foi extrudada e moída e o probiótico foi pesado em balança analítica e misturado (homogeneizado) na ração correspondente a cada tratamento. Antes do início do experimento, os peixes passaram por um período de adaptação de sete dias à dieta basal e as condições experimentais. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia (08h00m, 12h00 e 17h00m) até aparente saciedade por 45 dias. Aos 45 dias de experimento foi realizada a biometria dos animais para cálculo dos índices de desempenho.

As condições de temperatura, pH e oxigênio dissolvido na água foram monitoradas diariamente durante todo o período experimental. As dietas foram armazenadas em recipientes plásticos e mantidas sob-refrigeração durante todo período experimental.

Tabela 1 - Composição química da dieta basal (controle) com base na matéria seca.

| Nutriente       | %    |
|-----------------|------|
| Proteína Bruta  | 32   |
| Matéria Mineral | 4    |
| Extrato Etéreo  | 5,02 |

Premix vitamínico/mineral por kg de ração (Anhambí Alimentos Ltda., Itapejara d' Oeste, PR): vitamina A (min): 12.000 UI; vitamina D3 (min): 2.400 UI; vitamina E (min): 200 mg; vitamina K3 (min): 6,0 mg; vitamina B1 (min): 15 mg; vitamina B2 (min): 36 mg; vitamina B6 (min): 20 mg; vitamina B12 (min): 36 mcg; vitamina C (min): 1.000 mg; ácido fólico (min): 3,8 mg; ácido pantotênico (min): 40 mg; ácido nicotínico (min): 150 mg; biotina (min): 800 mcg; inositol (min): 200 mg; ferro (min): 50 mg; cobre (min): 8,0 mg; zinco (min): 100 mg; manganês (min): 50 mg; iodo (min): 1,0 mg; selênio (min): 300 mcg.

#### 4.2 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE DESEMPENHO

Ao final do período experimental os peixes foram submetidos a um jejum de 24h, anestesiados em eugenol (75mg/L) pesados e medidos. Os índices de desempenho foram avaliados considerando-se os seguintes parâmetros:

- Ganho de peso (GP)  
 $GP = PF - PI$
- Sobrevida (S) =  $(n^{\circ} \text{ final de peixes} / n^{\circ} \text{ inicial de peixes}) \times 100$
- Comprimento inicial
- Comprimento final

Onde:  $PF$  = peso final (g);  $PI$  = peso inicial (g);

### 4.3 ANÁLISES BROMATOLÓGICAS

As análises das dietas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da UTFPR-DV. Para a análise das dietas experimentais, foram coletadas amostras de cada tratamento e analisadas para Proteína Bruta (PB), Matéria Seca (MS), Extrato Etéreo (EE) e Matéria Mineral (MM).

Ao final do experimento, dez peixes de cada repetição foram sacrificados em eugenol (75mg/L) e moídos até realização das análises. A proteína bruta foi determinada pelo método de Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ). A matéria seca foi determinada pela secagem das amostras até o peso constante a 105°C em estufa. O extrato etéreo foi determinado pela extração com éter após hidrólise ácida. E a matéria mineral foi determinada em forno de mufla a 550°C por cerca de 24 horas (AOAC – *Association of Official Analytical Chemist*, 2000).

### 4.4 AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTESTINAL

A coleta de material biológico para análise histológica foi realizado aos 45 dias de experimentação. Dois exemplares de cada tratamento foram sacrificados em eugenol (75mg/L), e retirado fragmento da porção anterior do intestino para confecção das lâminas. Os fragmentos coletados foram presos em base de cartolina retangular, colocados em recipientes de vidro para o processo de fixação. Cada fragmento foi fixado individualmente em fixador Alfac durante 24 horas e, após, conservados em álcool 70% até o momento do procedimento histológico usual, foram desidratados em banhos de álcoois com diferentes graduações, e xilol, posteriormente foram emblocados em parafina.

As lâminas foram montadas no Laboratório da Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, cada bloco foi seccionado por navalha de aço em um micrótomo obtendo-se cortes de 5 µm de espessura que foram distendidos em banho-maria na temperatura 40°C, e “pescados” com laminas. Posteriormente a estufa á 56°C para secagem e remoção de excedentes de parafina, em seguida passaram pelo processo de desparafinização e hidratação e finalmente os cortes foram corados com hematoxilina-eosina (HE). Os cortes foram analisados em microscópio óptico de luz com câmera fotográfica e auxílio de

programa específico (ZEN, ZEN 2012 Bluee Edition, Cral Zeiss Microscopy®). Foram realizadas as medidas do comprimento das vilosidades intestinais (aumento 10X) e da camada muscular (aumento 40x). Foram optadas as medidas das vilosidades a partir da base da camada muscular até ao ápice das vilosidades

#### 4.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO INTESTINO

Para análise microbiológica da microbiota intestinal, os peixes (n=22) sofreram eutanásia, com em eugenol (75mg/L) e, após assepsia local dos mesmos com álcool 70% G.L., foi coletado o intestino na sua totalidade e transferido para uma placa de Petri esterilizada.

Os peixes foram levados ao laboratório de microbiologia da UTFPR-DV, para manuseio em condições assépticas. Os peixes foram desinfectados com auxílio de papel toalha e álcool 70%, e posteriormente realizado um corte lateral na cavidade abdominal para facilitar a retirada dos intestinos.

As amostras foram colocadas em tubos de ensaio com 9 ml de água peptonada (0,1% de peptona em água destilada), as amostras foram homogeneizadas com auxílio de agitador de tubos tipo vortex, e diluídas em seis séries ( $10^{-1}$ ;  $10^{-2}$ ;  $10^{-3}$ ;  $10^{-4}$ ;  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$ ).

Após a diluição 100 µL (cem microlitros) de cada amostra diluída foi semeada em placa de Petri contendo meio LB (Luria-Bertani" Agar), este processo foi realizado em duplicata de forma a obter resultados mais confiáveis, as placas foram incubadas em estufa microbiológica com temperatura constante de 30 °C, onde permaneceram por 24 horas, até a constatação do crescimento de bactérias. Para a diferenciação de bactérias lácticas foi semeado as bactérias do meio LB para o meio MRS (De Man, Rogosa and Sharpe), após o processo de semeadura na placa foi realizado a contagem das colônias, e seus resultados expressos em UFC/g de intestino, foram identificadas de acordo pelo método de coloração de Gran e pelo teste bioquímico catalase.

#### 4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICA

Todos os dados foram submetidos à análise de variância, através do programa estatístico SAS. As diferenças entre as médias foram analisadas pelo teste de Tukey. Para todas as análises foi utilizada a probabilidade de 5%.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os Valores médios obtidos de temperatura foram de  $28,45 \pm 0,07$ , para pH  $6,85 \pm 0,21$  e para oxigênio dissolvido  $8,25 \pm 0,21$ . Estes resultados mantiveram-se dentro das recomendações, indicando que a qualidade da água permaneceu constante durante o período. No processo de sifonar diariamente o fundo dos aquários impediram o acúmulo de matéria orgânica, garantindo a manutenção da qualidade da água.

As análises de variância não apresentaram efeito significativo ( $p > 0,05$ ) dos tratamentos sobre os parâmetros de desempenho, ganho de peso, comprimento inicial, comprimento final e sobrevivência (Tabela 2).

Tabela 2 - Ganho de peso (GP), sobrevivência, comprimento inicial e comprimento final da carpa comum (*C. carpio*) suplementadas com diferentes níveis de probiótico.

| <b>Probiótico*</b> | <b>GP</b>        | <b>C. inicial</b> | <b>C. Final</b> | <b>Sobrevivencia</b> |
|--------------------|------------------|-------------------|-----------------|----------------------|
| <b>%</b>           | <b>(g)</b>       | <b>(cm)</b>       | <b>(cm)</b>     | <b>%</b>             |
| 0,0                | $53,47 \pm 4,8$  | $1,91 \pm 0,2$    | $3,27 \pm 0,04$ | $90,0 \pm 3,3$       |
| 0,15               | $55,80 \pm 16,6$ | $2,03 \pm 0,6$    | $3,27 \pm 0,10$ | $62,2 \pm 45,5$      |
| 0,30               | $55,99 \pm 8,9$  | $2,02 \pm 0,2$    | $3,25 \pm 0,12$ | $90,0 \pm 3,3$       |
| 0,45               | $55,52 \pm 4,6$  | $1,94 \pm 0,4$    | $3,30 \pm 0,13$ | $92,2 \pm 3,8$       |
| <b>Anova P</b>     | <b>0,9830</b>    | <b>0,9745</b>     | <b>0,9573</b>   |                      |

\*CALSPORIN®10 ( $1 \times 10^9$ - *Bacillus subtilis*)



Assim como os resultados de Graeff e Mandardo, (2006), com a utilização de probiótico na alimentação de alevinos de carpa comum (*C. carpio*) nas condições experimentais testadas o uso do probiótico com as dosagens utilizadas não propiciou melhorias nos resultados de desempenho. E Tachibana et al., (2011), experimento com pós larvas de tilápia-do-Nilo utilizando probiótico a base de *Bacillus subtilis* não demonstraram diferenças ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos nos parâmetros de desempenho, avaliados em ganho de peso e taxa de crescimento específico.

Determinados probióticos sob condições específicas do ambiente não expressam efeitos sobre o crescimento, tanto em peso como comprimento total e necessitam de algum estímulo estressor aos animais para demonstrar os efeitos benéficos sobre a capacidade de resposta, principalmente a resposta imune (THACHIBANA et al., 2011). Por outro lado resultados de Yambo e Zirong (2006), em um trabalho com carpa comum (*C. carpio*), no qual foram suplementadas com vários tipos de probióticos na dieta apresentou um desempenho de crescimento melhor do que as dietas controle, melhorando a taxa de sobrevivência dos animais durante 60 dias de estudo.

A análise da morfologia intestinal da porção anterior do intestino mostrou diferenças significativas ( $p<0,001$ ) nos valores de altura das vilosidades e espessura da camada muscular nos peixes alimentados com ração adicionada o probiótico (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores médios e desvio padrão da altura das vilosidades e da camada muscular por tratamento em carpa comum (*C. carpio*).

| Probiótico* %  | Altura da vilosidade (µm) | Camada muscular (µm)  |
|----------------|---------------------------|-----------------------|
| 0,0            | 55,62±15,9 <sup>a</sup>   | 4,10±1,1 <sup>b</sup> |
| 0,15           | 37,62±8,9 <sup>b</sup>    | 4,49±1,2 <sup>b</sup> |
| 0,30           | 49,67±13,1 <sup>a</sup>   | 9,15±2,5 <sup>a</sup> |
| 0,45           | 46,20±9,5 <sup>b</sup>    | 4,33±1,2 <sup>b</sup> |
| <b>Anova P</b> | <b>&gt;0.0001</b>         | <b>&gt;0.0001</b>     |

\*CALSPORIN®10 ( $1 \times 10^9$ - *Bacillus subtilis*)

No presente estudo foram encontradas diferenças significativas ( $p < 0,001$ ) sobre a altura de vilosidades em animais que receberam a dieta com probióticos com 0,30% de inclusão ( $49,67 \pm 13,1$ ), mas não diferenciou estaticamente do controle ( $55,62 \pm 15,9$ ), já o resultado encontrado da espessura da camada muscular com a inclusão de 0,30% houve diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre os tratamentos.

O probiótico com *Bacillus subtilis*, presente na dieta dos peixes, provavelmente alterou a microbiota do trato intestinal.

As alterações morfológicas intestinais observadas mostraram o efeito benéfico do probiótico podendo ser explicado pela redução da colonização por bactérias prejudiciais à mucosa, que atuam inibindo sua aderência ao enterócito, por meio da ligação com o glicocálix, esta ligação promove a exclusão competitiva de bactérias indesejáveis por meio da aderência aos sítios de ligação dos enterócitos (glicocálix) (FURLAN, 2005).

A espessura da camada muscular dos peixes tem sido correlacionada com o segmento intestinal de peixes, espécie, hábito alimentar e quantidade de proteína na dieta (CAO; WANG, 2009; MAKINO, 2010).

Segundo Carvalho et al. (2011), quando se obtém um aumento da altura das vilosidades, pode ser definido como a melhora na integridade da mucosa, o que lhe permite seu desenvolvimento, esse aumento do tamanho resulta no aumento da área de superfície de contato e conseqüentemente melhora na absorção de nutrientes (CASPARY, 1992).

Assim como, no trabalho realizado por Mello et al. (2013), na alimentação de tilápias com probiótico *B. cereus* e *B. subtilis* adicionados à dieta houve influência positiva na altura das vilosidades, e pelas diferenças entre os valores da morfometria sugere o grau de eficiência do probiótico utilizado na dieta de peixes. Corroborando com o trabalho de Carvalho et al. (2011), trabalhando com alevinos de tilápias no qual foi acrescentado em sua dieta probiótico a base de *Bacillus subtilis*, e obteve resultados significativos ( $P < 0,05$ ) para a altura das vilosidades.

Ainda é prematura a informação sobre o modo de ação dos probióticos, pelo qual, as cepas modulam a morfologia intestinal, mas é correto afirmar que diversos microrganismos promovem o fenômeno de probiose através de mecanismo de ação (CEROZI, 2012), resultando nos estudos que apresentaram significância em

comparação com o controle. Resultados semelhantes ao uso de imunoestimulantes sobre a altura de vilosidades foram observados também em outros animais de produção.

Pelicano et al. (2003), ao utilizar probióticos *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*, em um período de 42 dias, foi observada significativamente maior altura de vilos com o aditivo em comparação com a ração controle. O oposto foi observado por Chiquieri et al. (2007) ao trabalharem com suínos, verificaram que a adição de probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*) na dieta para suínos em crescimento e terminação não tem efeito sobre a altura das vilosidades.

Resultados de pesquisas com probióticos até o momento são contraditórios quanto à sua eficiência. Essa contradição, entre os trabalhos, pode justificar-se frente aos dados obtidos em relação à idade do animal, tipo de probiótico, viabilidade de microrganismos a serem aderidos às rações e suas condições de armazenamento (CARVALHO et al., 2011).

Resultados encontrados sobre a UFC (Unidades Formadoras de colônia) para a bactéria *Bacillus subtilis* não apresentaram efeito significativo entre os tratamentos (Tabela 4).

Tabela 3 – Resultados da análise da microbiota intestinal de carpa comum (*C. carpio*) sobre os tratamentos pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de *B. subtilis*.

| Probiótico* %  | UFC/g                           |
|----------------|---------------------------------|
| 0,0            | $8,19 \times 10^7 \pm 70287949$ |
| 0,15           | $1,27 \times 10^8 \pm 13179055$ |
| 0,30           | $2,16 \times 10^9 \pm 81177403$ |
| 0,45           | $3,47 \times 10^8 \pm 95989746$ |
| <b>Anova P</b> | <b>0.2452</b>                   |

\*CALSPORIN®10 ( $1 \times 10^9$ - *Bacillus subtilis*)

Não houve resultados significativos ( $P > 0,05$ ) nos peixes alimentados com probiótico e o tratamento controle sobre a UFC/g de intestino. O efeito do probiótico sobre o animal parece estar relacionado ao tempo de administração do produto

(MELLO et al. (2013). Carnevali et al. (2004) observaram que nos primeiros 35 dias de criação de larvas de *sea bream* (*Brama australis*), tanto bactérias anaeróbicas quanto as aeróbicas do intestino do animal não haviam sofrido modificações com a inclusão de *Lactobacillus* spp. Esses autores observaram alterações significativas da microbiota após os 66 dia de suplementação do probiótico. Corroborando com dados do trabalho de Meurer et al. (2007), no trabalho com tilápias do Nilo alimentadas com probiótico o número médio das unidades formadoras de colônia (UFC) de bactérias submetidos aos tratamentos com e sem probiótico não foi influenciado pelos tratamentos ( $P>0,05$ ).

Os resultados das análises bromatológicas da composição química da carcaça das carpas, Proteína Bruta (PB), Extrato Etéreo (EE), Matéria Mineral (MN) e Matéria seca (MS) não foram significativos ( $P>0,05$ ) (Tabela 3).

Tabela 3 – Proteína Bruta (PB), Extrato Etéreo (EE), Matéria Mineral (MN) e Matéria Mineral (MS) de carpa comum (*C. carpio*) suplementadas com diferentes níveis de probiótico.

| <b>Probiótico</b> | <b>PB</b>     | <b>EE</b>     | <b>MM</b>     | <b>MS</b>     |
|-------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>%</b>          | <b>%</b>      | <b>%</b>      | <b>%</b>      | <b>%</b>      |
| 0,0               | 50,14±6,2     | 8,81±5,2      | 1,86±0,005    | 9,35±3,12     |
| 0,15              | 44,98±4,7     | 6,1±5,1       | 1,87±0,02     | 10,54±2,34    |
| 0,30              | 34,89±12,4    | 6,0±2,9       | 1,88±0,01     | 6,19±5,12     |
| 0,45              | 51,55±0,09    | 21,89±18,43   | 1,88±0,02     | 10,16±0,77    |
| <b>Anova P</b>    | <b>0,1469</b> | <b>0,2866</b> | <b>0,5187</b> | <b>0,5286</b> |

Resultados contraditórios no trabalho realizado por Mello et al. (2013), nos parâmetros de qualidade de carcaça em alevinos de tilápias alimentadas com probiótico observaram efeito ( $P<0,05$ ) entre os teores de proteína bruta e extrato etéreo apresentando melhor aproveitamento da proteína e, maior porcentagem desse nutriente na carcaça.

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados permitem sugerir que a inclusão do probiótico (*Bacillus subtilis*) na dieta de Carpa comum (*C. carpio*), nas condições testadas, não interferiu significativamente no percentual de sobrevivência, parâmetros de desempenho e no número de Unidades formadoras de colônia (UFC/g), mas induziu o aumento da altura das vilosidades e espessura da camada muscular. Porém necessita de vários estudos sobre o modo de ação dos probióticos.

## REFERÊNCIAS

- ABIDI, Rehana. Use of probiotics in larval rearing of new candidate species. **Aquaculture**, v.8, n.2, p. 5-16, 2003.
- ALBUQUERQUE, Daniele M.; MARENGONI, Nilton G; BOSCOLO, Wilson R.; RIBEIRO, Ricardo P.; MAH, Ilson; MOURA, César M. de. Probióticos em dietas para tilápia do Nilo durante a reversão sexual. **Ciência Rural**, v.43, n.8, ago, 2013.
- ALY, Salah.M.; AHMED, Yousef .A.G.; GHAREEB, Ahlam .A.A.; MOHAMED, Moahmed.F. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 25, p. 128-136, 2008.
- ANDERSON, D.P.; SIWICKI, A.K. **Basic haematology and serology for fish health programs**. In: Shariff, M.; Arthur, J.R.; Subasinghe, R.P. (Ed.) Diseases in Asian Aquaculture II. Manila: Fish Health Section, Asian Fisheries Society, p.185-202, 1995.
- ARAUJO, José A de. et al. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasileira**, v.1, n.3, p.69-77, 2007.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST – AOAC. **Methods of Analysis**, 14<sup>th</sup> ed. Washington, 2000. P. 152-160.
- BALCÁZAR, L. José; BLAS, Ignacio de; RUIZ-ZARZUELA, Imanol; CUNNINGHAM, David; VENDRELL, Daniel; MUZQUIZ, L. José. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary Microbiology**, v.114, p.173–186, 2006.
- BARCELLOS, Leonardo J. G.; SOUZA Silvia M. G.; WOEHL, Viviane M. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e conseqüências (revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 26, n. 1, 99-111, 2000
- BOYD, Claude E.; QUEIROZ, Julio F. Manejo das condições do sedimento do fundo e da qualidade da água e dos efluentes de viveiros. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Ed. TecArt, cap. 3, p. 25-44, 2004.

BRITO, M. Johnny de; FERREIRA, C. H. Antônio; JÚNIOR, S. A. Hermógenes de., ARARIPE A. B. N. Maria de, LOPES, B. João; DUARTE, R. Adriana; CARDOSO, S. Elves de, RODRIGUES, L. Viviane. Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de não-ruminantes – Revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**. Artigo 205, v 10, n 4, p. 2525 – 2545, 2013.

CAMARGO, Sabrina G. O. de; POUHEY, Juvêncio L. O. F. Aqüicultura um mercado em expansão. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 4, p. 393-396, 2005.

CAO, X.J; WANG, W.M. Histology and mucin histochemistry of the digestive tract of yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. **Journal of Veterinay Medicine Anatomy Histology Embyology**, Berlin, v. 38, p. 254-261, 2009.

CARVALHO, V. Jaciane de; LIRA, D. Alessandra de; COSTA, P. S. Denise; MOREIRA, T. L. Eduardo; PINTO, B. F. Luis; ABREU, D. Ricardo; ALBINATI, B. C. Ricardo. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do – Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**. v.12, n.1, p.176-187, 2011.

CASPARY, W. F. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. **The American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda, v. 55 , p. 299-308, 1992.

CEROZI, Brunno S. da. **Prebióticos e probióticos dietéticos, desempenho e higidez de juvenis de Pacu *Piaractus mesopotamicus* (holmberg, 1887)**. 2012. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência animal e pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP, 2012.

CHENG, Guyue; HAO, Haihong; XIE, Shuyu; WANG Xu; DAÍ, Menghong; HUANG, Lingli; YUAN, Zonghui. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry?. **Frontiers in Microbiology**. 2014.

CHIQUIERI, J.; SOARES, R.T.R.N.; HURTADO NERY, V.L.; CARVALHO, E.C.Q.; COSTA, A.P.D. Bioquímica sangüínea e altura das vilosidades intestinais de suínos alimentados com adição de probiótico, prebiótico e antibiótico. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.2, p. 97-104, 2007.

COSTA, Andréa B.; CYRINO, José E. P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and

*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 3, p. 281-284, 2006.

CRUZ, M. Patricia; IBÁÑEZ, Ana L.; HERMOSILLO, M. A.Oscar; SAAD, R. C. Hugo. *Review Article* Use of Probiotics in Aquaculture. **International Scholarly Research Network. ISRN Microbiology**. 2012.

CYRINO, P. E. José; BICUDO, A. J. Álvaro de.; SADO, Y. Ricardo; BORGHESI, Ricardo; DAIRIKI, K. Jony. A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v 39, p 68-87, 2010.

FAO. Food Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries department trends in global aquaculture production. 2006.

FAO. **Panorama da produção mundial de pescado**, 2010. Disponível através do programa *Fish Stat Plus (Universal Software for Fishery Statistical Time Series)*.

FAO. **The State of world fisheries and aquaculture**, 2012. Food and agriculture organization of the united nations Rome, Cap. 1; Pg. 9.

FARZANFAR, Ali. The use of probiotics in shrimp aquaculture. **FEMS Immunology Medical Microbiology**. v 48, p 149–158, 2006.

FERREIRA, F. M. Pollyanna de; BARBOSA, M. José; SANTOS, L. Elton; FERREIRA, Luciano B.; OLIVEIRA, Elen P.; SILVA, Yolanda L. da. Uso de dejetos de suínos na alimentação de tilápias nilóticas (*Sarotherodon niloticus*). **R. Un. Alfenas**, v 5, p 37-40, 1999.

FILHO, S. T. José. De.; BRÁS, M. José de.;<sup>3</sup>, GOMIDE, M. T. Andréa de.; OLIVEIRA, A. G. Maria de.; DONZELE, L. Juarez; MENIN, Eliane. Anatomia Funcional e Morfometria do Intestino no Teleostei (Pisces) de Água Doce Surubim (*Pseudoplatystoma coruscans* - Agassiz, 1829). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.30, n.6, Viçosa 2001.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food outlook**: biannual report on global food markets. Rome: FAO, 2013. 134p.



FURLAN, R.Luis. Avaliação e uso de pré e probióticos. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 6., 2005, Chapecó. **Anais**. Chapecó,. p.58-74. 2005.

FURLAN, Renato L.; MACARI, Marcos; LUQUETTI, Brenda C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos. . In:SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., Camboriú. **Anais**. Balneário: UNESP- Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, 2004.

GAGGIÀ, Francesca, MATTARELLI, Paola □, BIAVATI, Bruno. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**. 2010.

GARCIA, R. Gisela; SCHOCKEN-ITURRINO, P. Rubén; MEDEIROS A. Alessandra; POIATTI. L. Maria; RAGAZANI, F. V. Adriana; HATAYDE, C. Milena; CHIODA, T. Priscila, COAN. Rogério Marchiori; PIGATTO, P. Caroline, TROVÓ, P. V. Kátia. Inibição do crescimento de bactérias patogênicas por *Lactobacillus acidophilus*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. 2006.

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

GIBSON, Glenn R., ROBERFROID, Marcel D. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**. v. 125 (6): 1401-1412, 1995.

GRAEFF, Alvaro; MONDARDO, Marcia. Influência do probiótico no crescimento das carpas comum (*Cyprinus carpio* L., 1758) na fase de recria - Influence of the probiotic in growth of common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) in fase to create again. **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET**. v 6, n 11, 2006.

HONG , A. Huynh; DUC. H. Le; CUTTING, M. Simon. The use of bacterial spore formers as probiotics. **FEMS Microbiology Reviews**. v 29, p 813–835. 2005.

HUANG, J.M.; LARAGIONE, R.M.; NUNEZ, A.; CUTTING, S.M. Immunostimulatory activity of *Bacillus* spores. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**. 53 (2) p 195–203, 2008.

KUMARI, Jaya.; SAHOO, Prafulla K. Dietary  $\beta$ -1,3 glucan potentiates innate

immunity and disease resistance of Asian catfish, *Clarias batrachus* (L.). **Journal of Fish Diseases**, Oxford, v. 29, p. 95-101, 2006.

LLEWELLYN, S. Martin; BOUTIN, Sébastien, HOSEINIFAR, H. Seyed ; DEROME, Nicolas. Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization ,manipulation and importance in aquaculture and fisheries. **Frontiers in Microbiology | Aquatic Microbiology**. v 5 Article 207. 2014.

MAKINO, L.C. **Estrutura, ultraestrutura e histoquímica do aparelho digestório do *Prochilodus lineatus*. Análise da diversidade da microbiota intestinal de *Prochilodus lineatus* e *Pterygoplichthys anisitsi***. 2010. 111 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da UNESP Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2010.

MELLO Hurzana de. ***Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* na suplementação dietária de juvenis de Tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e seu efeito probiótico**. 2012. 57f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)- Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura. Jaboticabal-SP, 2012.

MELLO, Julieta H. de; MORAES, Julieta R.E.; NIZA, Ines G.; MORAES, Flávio R. de; OZÓRIO, Rodrigo O. A.; SHIMADA, Marina T.; ENGRACIA FILHO, Jair R.; CLAUDIANO, Gustavo S. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de tilápia-do-Nilo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v 33, n 6, p 724-730, junho 2013.

MEURER, Fábio; HAYASHI, Carmino; COSTA, M. Mateus da, FRECCIA, M. André; MAUERWERK, Terezinha. *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia-do-nilo submetidos a desafio sanitário. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.36, n.5, p.1219-1224, 2007.

MORAIS, Mauro B. de; JACOB, Cristina M. A. O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. **Jornal de Pediatria. (Rio J.)** v.82, n.5, Porto Alegre, 2006.

MOSS, S., PROSSER, H., COSTELLO, H. Reliability and validity of the PAS–ADD Checklist for detecting psychiatric disorders in adults with intellectual disability. **Journal of Intellectual Disability Research**, 42, 173– 183, 1998.

NAKANDAKARE, Ivan B. et al. Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilápias-do-Nilo: parâmetros hematológicos, imunológicos e microbiológicos. **Boletim Instituto Pesca São Paulo**, v 39, n 2, p 121–135, 2013.

NAKANDAKARE, Ivan B. **Inclusão de probióticos no processamento de ração para tilápia do Nilo, *oreochromis niloticus* variedade Gift** .2010. 74f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura ) Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento. São Paulo-SP, 2010.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília: FAO, p 276. 2008.

OZÓRIO, R.O.A.; AVNIMELECH, Y.; CASTAGNOLLI, Newton. Sistemas intensivos fechados de produção de peixes. In: CYRINO, J. E. P., URBINATI, Elizabeth C., FRACALOSSO, D. M., CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, cap. 2, p. 7-24, 2004.

PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; OBAB, A.; NORKUS, C.E.A.; KODAWARAC, L.M.; LIMA, T.A. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**, v.98, n.547, p.125-134, 2003.

PETRI, Rogério. Uso de exclusão competitiva na avicultura no Brasil. **II Simpósio de Sanidade Avícola**. Santa Maria-RS, 2000.

RIBEIRO, P. A. Paula; COSTA, Santos; LOGATO, R. V. Priscila. **Revista Eletrônica Nutritime**. Artigo 80. v 6, n1, p 837- 846. 2008.

RILEY, A. Margaret. Molecular mechanisms of Bacteriocin evolution. *Annu. Rev. Genet.* 32:255–78, 1998.

ROCHA, C. M. Carlos da.; RESENDE, K. Emiko de; ROUTLEDGE, B. A. Eric; LUNDSTEDT, M. Lícia. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. *Pesquisa agropecuária Brasileira*. v.48, n 8, Brasília 2013.

ROTTA M.A. Utilização do ácido ascórbico (vitamina C) pelos peixes. Corumbá: Embrapa Pantanal, p.54, 2003.

SAAD, I. M. Susana. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.42, n 1, São Paulo, 2006.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; MATTO, J; MATTILA-SANDHOLM,

T. Probiotic bacteria safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v.8, n.3, p. 197-215, 2000.

SOUZA, L. F. A.; ARAÚJO, D. N.; ASTOLPHI, J. L. L.; DIAS, L. B. M.; AMBIEL, A.C.; SANTOS, L. S.; CARMO, A. J; SILVA, P. C. G. Probiótico e antibiótico como promotores de crescimento para frangos de corte. **Colloquium Agrariae**, v. 6, n.2, p. 33-39, 2010.

TACHIBANA, Leonardo; DIAS, Danielle C.; ISHIKAWA, Carlos M.; CORRÊA, Camila F.; GERVÁSIO LEONARDO, Antônio F.; RANZANI-PAIVA, Maria José T. Probiótico na alimentação da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), durante a inversão sexual: desempenho zootécnico e recuperação da bactéria probiótica intestinal. **Bioikos**, Campinas-SP, v 25, p 25-31, 2011.

TAMASSAI, J. T. Sergio; GRAEFF, Alvaro; SHAPPO, L. Claudemir; APPEL, B. Henrique; JUNIOR AMARAL, Hilton; CASACA, M. Jose de.; KNIESS, Vitor; JUNIOR TOMAZELLI, Osmar. **Ciprinicultura- o modelo de Santa Catarina**. cap 10. 2004.

VARGAS, F.A. **Em busca de evidencias del sistema inmune del camarón**. **Cienc. Desarro**. v 140, p 65-71, 1998.

YANBO, Wang; ZIRONG, Xu. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. **Animal Feed Science and Technology** 127 , p. 283–292, 2006.