

UNIVERSIDADE TECNOLOGIA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA
CAMPUS DOIS VIZINHOS

VALFRIDES FELIX PONCIANO JUNIOR

**EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS NA ALIMENTAÇÃO DO
PACU *PIARACTUS MESOPOTAMICUS* (HOLMBERG, 1887):
EFEITOS SOBRE O DESEMPENHO E MORFOLOGIA
INTESTINAL.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS

2017

VALFRIDES FELIX PONCIANO JUNIOR

**EXTRATO ETANÓLICO NA ALIMENTAÇÃO DO PACU *PIARACTUS*
MESOPOTAMICUS (HOLMBERG, 1887): EFEITOS SOBRE O DESEMPENHO
E MORFOLOGIA INTESTINAL.**

Trabalho apresentado à disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso II, do
Curso de Zootecnia da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR.
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado.

DOIS VIZINHOS

2017



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



TERMO DE APROVAÇÃO

TCC

EXTRATO ETANÓLICO NA ALIMENTAÇÃO DO PACU *PIARACTUS* *MESOPOTAMICUS* (HOLMBERG, 1887): EFEITOS SOBRE O DESEMPENHO E MORFOLOGIA INTESTINAL.

Autor: Valfrides Felix Ponciano Junior

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADA em 06 de junho de 2017.

Prof. Dr. Sabrina Endo Takahashi

Msc. Angelita Muzzolon

Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado (Orientador)

AGRADECIMENTOS

Venho por meio deste, agradecer a todos que colaboraram com a minha formação pessoal e profissional, certamente não será possível citar a todos que contribuíram nessa caminhada ao longo desses anos, mas não posso deixar de citar algumas pessoas em especial.

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, e em sequência a meus pais Valfrides Felix Ponciano e Tereza do Nascimento Ponciano. Sem eles esta realização não seria possível, pois me apoiaram incondicionalmente durante minha vida e toda graduação, a estes e a minhas irmãs Vanessa, Gisele, Patrícia e todos os familiares, terei gratidão eterna.

A minha instituição UTFPR, na qual vou levar seu nome com orgulho e dedicação, por me oferecer meios e possibilidades de me tornar um profissional.

Ao meu orientador Ricardo Yuji Sado, minha gratidão pelos ensinamentos, “puxões de orelha” e orientação durante toda a graduação, pois sem seus ensinamentos tenho a certeza que o caminho seria muito mais árduo.

Todos os integrantes da unidade de ensino e pesquisa em piscicultura pela boa estrutura e me dar à possibilidade de realizar as atividades científicas. E também aos que colaboraram nos experimentos realizados, Ricardo, Pâmela, Francielle, Rodrigo, Maria e a todos outros que participaram de nossas atividades, seria impossível citar a todos.

Deixo aqui uma grande saudação todos os meus amigos, companheiros de turma, e especialmente aos professores, que atuam com amor e profissionalismo na nossa instituição, sem eles nada disso seria possível, deixo a eles um forte abraço e sinceros agradecimentos.

RESUMO

PONCIANO, Valfrides Felix Junior. **Extrato etanólico de própolis na alimentação do pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887): Efeitos sobre o crescimento e morfologia intestinal.** 2017. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso II (Graduação em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

O objetivo do estudo foi avaliar o desempenho dos peixes e as alterações morfológicas do epitélio intestinal causadas pela inclusão dietética de extrato etanólico de própolis (EEP) em concentrações crescentes (0,0; 1,5; 3,0 e 4,5%), fornecidas para os peixes durante 60 dias. Para este fim, foram utilizados 40 pacus ($208 \pm 35,75\text{g}$) mantidos em 4 tanques de 250 L em sistema de recirculação de água e aeração forçada, sendo cada peixe considerado como uma repetição ($n=10$). Os peixes foram alojados em lotes homogêneos de 10 peixes por caixa, com duas refeições diárias (9hrs-17hrs) até saciedade aparente; Ao final dos 60 dias foram submetidos a um jejum de 48 horas para diminuição do conteúdo fecal do trato intestinal e, após, foram sedados para biometria final e cálculo das variáveis de desempenho (ganho em peso, consumo alimentar e taxa de crescimento específico). Para a análise histológica foram eutanasiados (overdose de anestésico benzocaína e posterior secção medular) 4 peixes por tratamento ($n=4$) e retirado um fragmento da porção anterior do intestino para mensuração (altura das vilosidades e espessura da camada muscular do intestino). Os cortes foram analisados em microscópio de luz com auxílio do software (ZEN, ZEN 2012 Bluee Edition, Carl Zeiss Microscopy®), e os resultados submetidos a análise de variância ao nível de 5% de probabilidade, e caso significativo, realizado o teste de Tukey. A inclusão na concentração de 1,5% de extrato etanólico de própolis na dieta dos pacus demonstrou um maior ganho de peso e taxa de crescimento específico em relação aos demais tratamentos. Já a altura das vilosidades não foi afetada pelos tratamentos testados. Por outro lado, a espessura da camada muscular foi maior nos peixes tratados com 1,5% de EEP, quando comparados aos peixes que ingeriram 0,0, 3,0 e 4,5% de EEP na dieta. Dessa forma, nas condições que o experimento foi realizado, o EEP mostrou-se eficiente como promotor de crescimento e causou alterações morfológicas na espessura da camada muscular do intestino de pacus.

Palavras chave: camada muscular; desempenho; peixes; promotor de crescimento.

ABSTRACT

PONCIANO, Valfrides Felix Junior. **Ethanollic extract of propolis in the feeding of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887): Effects on growth and intestinal morphology.** 2017. 30 f. Completion Work Course II (II (Graduação em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2017.

The objective of this study was to evaluate the performance of fish and morphological alterations of the intestinal epithelium caused by the dietary inclusion of propolis ethanolic extract (EEP) in increasing concentrations (0.0, 1.5, 3.0 and 4.5%), supplied to fish for 60 days. For this purpose, 40 pacus ($208 \pm 35.75\text{g}$) were used in 4 250 L tanks in a system of water recirculation and forced aeration, and each fish being considered as a repetition ($n = 10$). The fish were housed in homogeneous lots of 10 fish per box, with two meals daily (9hrs-17hrs) until apparent satiety; At the end of 60 days, they were submitted to a 48-hour fasting to decrease the fecal contents of the intestinal tract, and afterwards, were sedated for final biometrics and calculation of the performance variables (weight gain, food consumption and specific growth rate). For the histological analysis, were euthanized (benzocaine anesthetic overdose and posterior medullary section) 4 fish per treatment ($n = 4$) and a fragment of the previous portion of the intestine was removed for measurement (villus height and thickness of the muscular layer of the intestine). The sections were analyzed under light microscopy using software (ZEN, ZEN 2012 Bluee Edition, Cral Zeiss Microscopy®), and the results were submitted to analyzes of variance at the 5% probability level and when the result is significant, apply Tukey's test. The inclusion in the concentration of 1.5% of ethanolic propolis extract in the pacus diet has been demonstrated a greater weight gain and specific growth rate in relation to the other treatments. The height of the villousness was not affected by the treatments tested. On the other way, the thickness of the muscular layer was higher in the fish treated with 1.5% of EEP, when compared to the fish that ingested 0,0, 3,0 and 4,5% of EEP in the diet. So, under the conditions that the experiment was carried out, the EEP proved to be efficient as a growth promoter and caused morphological changes in the thickness of the muscular layer of the pacus intestine.

Keywords: growth promoter; muscular layer; fishes; performance.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVO	9
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1 OBTENÇÃO DA PRÓPOLIS	14
4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO	14
4.3 ELABORAÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS	14
4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	15
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
6. CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com enorme potencial para o desenvolvimento da aquicultura, sua extensa costa litorânea, (aproximadamente 8.500 km) (1) e grande reserva de água doce (12% de toda água doce do mundo) possibilitam ao país, num breve futuro, se tornar um dos maiores produtores mundiais de pescado. Além desse fator, o clima tropical, a grande produção de grãos utilizados na fabricação de ração e 4,2 milhões de hectares de águas represadas, podem contribuir para que o negócio aquícola se fortaleça ainda mais no cenário nacional. (2)

O setor da aquicultura apresentou um bom crescimento produtivo, e quando comparado a outros setores de produção de carnes, foi o que obteve maior crescimento anual, com cerca de 8% ao ano, ficando a frente do crescimento produtivo de carne bovina (5,41%), carne de aves (4,1%) e suína (2,9%), no período de 2004 a 2014. Apesar desse crescimento, a produção ainda é considerada baixa, mediante a todo potencial hídrico e produtivo do país, no ano de 2014 foram produzidas aproximadamente 600 mil toneladas na aquicultura, enquanto a produção de aves foi de aproximadamente 12 milhões de toneladas e; a de carne bovina de 8 milhões de toneladas. (2)

Dentre as espécies mais cultivadas, destaca-se a produção de tilápia, com aproximadamente 260 mil toneladas e, a de peixes redondos, que engloba principalmente os peixes do gênero *Colossoma e Piaractus* (pacu, tambaqui, pirapitinga e outros híbridos) que totalizaram aproximadamente 186 mil toneladas em 2014. (2) O pacu *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1987) é um peixe nativo, típico da bacia do prata, dos rios do pantanal sul-mato-grossense e amazônicos, amplamente distribuído no território nacional; (3) possui um hábito alimentar onívoro, tem adaptabilidade no cultivo, apresenta rápido crescimento, possui uma carne branca e saborosa muito apreciada pelos consumidores, além de, uma boa aceitação à ração comercial, fato imprescindível para sua produção em cativeiro.

Afim de expandir e otimizar a produção do pescado, muitas vezes são utilizados sistemas intensivos de criação, que visam acelerar o processo de ganho de peso e reduzir o tempo de abate, utilizando a máxima capacidade de instalação para o melhor aproveitamento da área e conseqüentemente uma maior lucratividade. (4)

Nesse sistema, são utilizadas grandes quantidades de rações e alta densidade populacional de peixe, além de manejos (chipagem, reprodução artificial, biometria,

classificação, transporte, entre outros), o que pode resultar na diminuição da qualidade da água e beneficiar a disseminação de patógenos oportunistas no ambiente aquático. (5) Este fato pode gerar uma condição de estresse crônico nos animais, devido à quebra do equilíbrio homeostático dos peixes, afetando seu organismo, diminuindo sua sanidade, inibindo o seu crescimento e prejudicando a absorção dos alimentos através de processos inflamatórios no lúmen intestinal dos peixes, sendo que, em casos mais severos podem causar uma alta mortalidade dos animais, gerando um grande prejuízo ao produtor. (6)

O intestino dos teleósteos possui uma série de vilosidades no seu interior, contendo capilares arteriais que conduzem o sangue para o seu interior e, capilares venosos que retiram o sangue e os nutrientes absorvidos. Essas vilosidades intestinais possuem células epiteliais, chamadas de enterócitos, que se compõem de vilosidades ainda menores, as microvilosidades, localizadas na sua membrana apical, tendo por objetivo aumentar a área de absorção intestinal, sendo que, o comprimento dessas vilosidades e microvilosidades podem ser alterados de acordo com o estado nutricional e sanitário dos peixes. (7)

Diante disto, tem-se buscado alternativas que possam melhorar o desempenho produtivo dos peixes com o mínimo de impactos, seja ele residual, ou ambiental. A adoção de boas práticas de manejo, (BPMs) (8) auxiliam na redução da utilização de antimicrobianos no ciclo de produção, sem diminuir a produtividade do plantel. Aditivos naturais e imunostimulantes têm recebido atenção especial, já que agregam características desejáveis como, fácil obtenção, baixo custo, facilidade de incorporação à ração, baixo impacto ambiental e residual.

A própolis é um produto originário das plantas, processado pelas abelhas africanizadas (*Apis mellífera L.*) e utilizado na defesa e desinfecção da colméia. (9) Dentre suas atividades já registradas, as principais são: ação antimicrobiana, antioxidante e antiinflamatória. (10) (11) (12) Foram registradas também atividades na manutenção da integridade das membranas celulares de células intestinais (13) que colaboram para manutenção da sanidade dos peixes e propiciam um melhor aproveitamento do alimento fornecido.

O estudo buscou esclarecer os efeitos do extrato etanólico de própolis na alimentação do pacu, utilizando-o como promotor alternativo de crescimento dentro do ciclo experimental.

2. OBJETIVO

O estudo buscou verificar a eficiência do extrato etanólico de própolis como promotor de crescimento natural e esclarecer seus efeitos aditivos sobre a morfologia intestinal dos peixes.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a eficácia da suplementação dietética do extrato etanólico de própolis no ganho de peso, consumo alimentar e taxa de crescimento específico.
- Alcançar um aumento da área de absorção intestinal (altura das vilosidades intestinais e espessura da camada muscular).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Brasil é um país com grande potencial para o desenvolvimento da aquicultura, conta com aproximadamente 12% das reservas de água doce de todo o mundo, além de uma clima favorável a produção. Porém, a produtividade está muito abaixo de países com menores reservas de água doce como China, Índia, Vietnã, Indonésia e Japão. (14)

A produção total oriunda da piscicultura Brasileira no ano de 2015 foi de aproximadamente 483 mil toneladas, tendo como maior produtor o estado de Rondônia com 84.491 kg, seguido do estado do Paraná que registrou uma produção de 69.264 kg no ano. (15)

O pacu, espécie descrita por Holmberg (1887), denominado *Piaractus mesopotamicus* é um peixe amplamente distribuído no território nacional, principalmente na bacia do Prata, formada pelos rios Paraguai, Paraná, Uruguai e seus afluentes. (3) Possui um corpo em forma de disco e robusto, com dorso cinza escuro e ventre amarelado e atinge sua maturidade sexual por volta de três anos. (16) É considerada uma espécie de grande potencial para a piscicultura nacional, além de possuir um bom valor comercial e aceitação de mercado. (17) Pode atingir 5 kg e 60 a 82 cm de comprimento, (18) destaca-se também na pesca comercial e esportiva, sendo a primeira espécie em captura. (19) (3)

É um peixe de rápido desenvolvimento e fácil manejo; seus hábitos alimentares variam de acordo com a época do ano e a oferta de alimento, consomem preferencialmente frutos, folhas, moluscos, crustáceos e até pequenos peixes, além de uma boa adaptação à alimentação artificial, (20) o pacu é produzido intensivamente em programas de aquicultura, juntamente com o tambaqui, pirapitinga e seus híbridos. (21) Sua produção juntamente com a patinga em 2015 no Brasil foi estimada em 13.276 kg. (15)

Em sistemas intensivos, os peixes são constantemente impostos a vários tipos de manipulações estressantes como: superlotação, amônia elevada, reprodução artificial e classificação. (22) Estes fatores podem gerar um estresse nos peixes, deixando-os imunodeprimidos e susceptíveis a patógenos oportunistas encontrados no ambiente de criação intensiva. A imunodepressão é provocada pela quebra do equilíbrio homeostático, causado a partir da resposta neuroendócrina, que auxilia na defesa do animal em situações adversas; sendo caracterizada por uma elevação dos hormônios corticosteróides e da concentração de catecolaminas, que irão estimular a utilização de reservas de glicogênio hepático (para aumento dos níveis de glicose na corrente sanguínea), tendo como resposta o aumento do fluxo cardiovascular, da perfusão sanguínea e da permeabilidade de íons pelas brânquias. Este tipo de resposta tem a finalidade de preparar o animal para enfrentar

ou fugir de uma situação adversa, e caso ocorram por períodos prolongados, podem levar o animal a exaustão, (6) diminuindo a sua resistência e seu desempenho produtivo.

Buscando alternativas que pudessem melhorar o desempenho produtivo dos peixes de forma natural, (23) relataram que a microbiota intestinal sofre alterações como a diminuição de bactérias benéficas em situações estressantes, aumentando a quantidade de patógenos que geram metabólitos tóxicos ao animal, propiciando o surgimento de inflamações na mucosa intestinal, causando prejuízos imediatos ao desempenho animal.

A utilização da própolis já foi descrita há muitos séculos pela humanidade. (24) Os egípcios a utilizavam para embalsamar cadáveres e, seu poder medicinal foi descrito por médicos gregos e romanos. A utilização dos extratos foi descrita 300 anos a.C. sendo bastante utilizada na medicina popular. A própolis é constituída de aproximadamente, 50-60% de resinas e bálsamos aromáticos, 30-40% de ceras, 5-10% de óleos essenciais e até 5% de outras substâncias. Estão presentes ainda, microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês, magnésio, silício, titânio, bromo, zinco e vitaminas B1, B2, B6, C e E. (25)(26) Mais de 200 compostos químicos na própolis, já foram identificados dentre os quais, flavonoides, ácidos fenólicos, ácidos aromáticos, triterpenóides, naftaleno, fenóis, aldeídos, ácidos alifáticos, ésteres, aminoácidos, esteróides, açúcares, diterpenos, lignanas e entre outros. O maior grupo é dos flavonóides (flavonas, flavonóis, flavononas) assim como minerais e vitaminas entre outros. (27)(28)(29)(30)(31)(32) As abelhas a utilizam para diversas atividades na colônia, dentre elas: proteção da colméia, selar entradas indesejadas e furos, embalsamar insetos que adentraram a colméia afim de evitar sua decomposição dentro da mesma, proteger a colônia de doenças e infecção por bactérias, tudo isso devido suas propriedades antissépticas e antimicrobianas. (33)

Certamente a atividade antimicrobiana é mais descrita cientificamente. (34) Esta ação é encontrada em todas as amostras da própolis, fato este que está relacionado à sua atividade dentro da colméia de revestimento superficial, as abelhas utilizam a resina como um antisséptico natural inibindo os microrganismos patogênicos. (35) Pesquisas realizadas com bactérias isoladas de *Erwinia chrysanthemi*, causadora de uma doença que acomete as abelhas, concluíram que a resina possui efeito inibitório a esse tipo de microrganismo, comprovando a ação da própolis diante desse patógeno. (36)

Segundo (35) que avaliou as propriedades farmacológicas e atividades da própolis, as bactérias gram-positivas são mais sensíveis a própolis do que as bactérias gram-negativas; Dentre as gram-positivas podemos citar: *Staphylococcus aureus*,

Streptococcus mutanse, as gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosas*, *Escherichia coli*.(38)(39)

Os mecanismos de ação da própolis diante das bactérias foram estudados por (39), atestando que esse composto pode atuar promovendo uma desorganização do citoplasma e síntese proteica. Outro mecanismo verificado foi à alteração da permeabilidade da membrana iônica bacteriana, interferindo prejudicialmente na síntese de ATP e transporte de membrana. A própolis também resultou em uma menor motilidade bacteriana, devido a ação dos compostos flavonóides e de derivados do ácido cinâmico, tornando o microrganismo mais susceptível a ação do sistema imune. (40)

Devido às suas ações e propriedades antibióticas, a própolis tem sido bastante estudada e utilizada na medicina veterinária e zootecnia, por sua capacidade de substituir e/ou reduzir o uso de antibióticos e quimioterápicos no ciclo produtivo. (41) Em estudo realizado com vacas leiteiras, o extrato de própolis mostrou-se eficiente no tratamento contra a mastite. (42) Na avicultura a própolis pode ser utilizada como um eficiente promotor natural de crescimento nas condições experimentais. (43)

Visando comprovar a eficácia da própolis também em animais aquáticos, (44) testaram diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de própolis (0,0; 0,2; 0,5; 1 e 1,5%) sobre os parâmetros de desempenho (ganho de peso, consumo de ração, comprimento, conversão alimentar, tempo de metamorfose e sobrevivência), de girinos de rã-touro e observaram um maior ganho de peso nos girinos que receberam a dieta com a inclusão do extrato hidroalcoólico, sendo diminuído também o tempo de metamorfose dos girinos, o que torna o animais mais precoce. Em outro estudo por (13), objetivou-se verificar possíveis alterações e/ou lesões no fígado, rim e intestino de girinos de rã-touro, sendo que foram utilizados os mesmos níveis do extrato hidroalcoólico de própolis do experimento relatados anteriormente e não foi observada nenhuma alteração na espessura da camada muscular, lesões no fígado ou rim.

Segundo (45), o extrato etanólico de própolis foi um eficiente promotor de crescimento quando utilizado na suplementação de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), aumentando a taxa de crescimento específico, eficiência alimentar proteica, sobressaindo-se daqueles animais que não receberam a dieta suplementada.

Em estudo realizado com truta arco-íris, buscou-se verificar uma possível toxicidade da própolis quando ministrada em um período de 8 semanas, com níveis crescentes de inclusão contendo 0, 0,5 1,5, 4,5 e 9g por quilo de ração, além de parâmetros de crescimento e bioquímicos. Não foram observadas alterações no crescimento e nos

parâmetros bioquímicos, comprovando que a própolis não contém nenhum tipo de efeito secundário indesejado quando comparado ao grupo controle. (46) Em estudo realizado com níveis crescentes de extrato de própolis marrom na dieta de alevinos de tilápia do Nilo, (47) descreveu o potencial da própolis como promotor de crescimento aumentando o ganho de peso final dos peixes. A inclusão na dieta do extrato etanólico de própolis também aumentou o crescimento e taxa de crescimento específico de Tilápias-do-Nilo, que foram desafiadas com *Aeromonas hydrophila*, tendo efeito antagonista a esse tipo de microrganismo. (48)

Ainda são escassos os estudos que contemplam o uso da própolis em dietas para peixes como promotor de crescimento, dessa forma mais pesquisas devem ser realizadas levando em consideração a dosagem, período de suplementação dietética e mecanismos de ação.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Unidade de Ensino e Pesquisa de Piscicultura localizado nas dependências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, no período de 60 dias.

4.1 OBTENÇÃO DA PRÓPOLIS

A própolis bruta foi adquirida no setor de apicultura da UTFPR campus Dois Vizinhos. Foram utilizadas cinco colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas, alojadas em colméias padrão Langstroth, com coletores de própolis inteligente (CPI), manejadas apenas para a produção de própolis, com rainhas irmãs da mesma idade. O CPI é composto de uma melgueira com sarrafos laterais móveis, com altura de aproximadamente 2 cm, que foi colocado entre a tampa e o ninho da colméia.

Semanalmente foram retirados sarrafos de ambas as laterais, e a própolis bruta limpa e retirando todo o material estranho (poeira, pedaço de madeira, abelhas mortas). Em seguida a amostra foi triturada, homogeneizada, pesada e armazenada a -18°C, para posterior obtenção do extrato etanólico.

4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO

Para o preparo do extrato etanólico de própolis (EEP), 100g de própolis obtidos conforme descrito anteriormente, foram transferidos para frascos de vidro, contendo 450ml de etanol 80% e a extração feita a 50°C, em banho maria por 30 minutos sob agitação constante segundo metodologia proposta por (49). Em seguida filtrado e transferido para um frasco de vidro com tampa de rosca. Procedimento esse, realizado na central de análises de alimentos e microbiologia UTFPR- Campus Pato Branco-PR.

4.3 ELABORAÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS

A tabela 1 mostra os níveis de garantia da dieta base. Foi utilizada a ração comercial Supra acqualine 32® (Alisul, São Leopoldo-RS), com adição de níveis crescentes de EEP correspondentes aos tratamentos (0,0, 1,5, 3,0 e 4,5% por quilo de ração).

Tabela 1- Níveis de garantia da dieta base.

Composição	(%)
Umidade (máx)	12
Proteína bruta (mín)	32
Extrato etéreo (mín)	5,0
Matéria fibrosa (máx)	10
Matéria mineral (máx)	12
Cálcio (mín)	2,5
Fósforo (mín)	1,0

***Composição premix:** Vitamina A(mín) 300mg/kg, vitamina C (mín)300mg/kg, vitamina D3 (mín) 3500ui/kg, vitamina E (mín) 120 ui/kg, vitamina K3(mín) 5mg/kg, vitamina B1 (mín) 5mg/kg, vitamina B2 (mín) 10mg/kg, vitamina B6 (mín) 7mg/kg, vitamina B12 (mín) 120mcg/kg, ácido fólico 1,2mg/kg, ácido pantotênico 60mg/kg, biotina (mín) 0,5mg/kg, niacina (mín) 5mg/kg, cobre (mín) 95mg/kg, ferro (mín) 22mg/kg, iodo (mín) 45mg/kg, manganês (mín) 5mg/kg, selênio (mín) 35mg/kg, zinco (mín) 180mg/kg, inositol (mín) 20mg/kg.

Fonte: Alisul alimentos S.A (2015)

O EEP foi borrifado sob as dietas e, em seguida levado em estufa com ventilação de ar por 10 minutos em temperatura de 45° C para secagem e incorporação do tratamento. Após este processo, foram armazenados em potes plásticos e mantidos refrigerados.

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram selecionados para a experimentação 40 pacus proveniente de piscicultura comercial, e submetidos a adaptação pré-experimental de sete dias em ambiente controlado no laboratório de pesquisa. Os peixes foram alojados em tanques de 250 litros, com sistema de recirculação de água, aeração forçada, controle de temperatura com

aquecedor e termostato e filtragem biológica externa. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 4 tratamentos e 10 repetições, sendo considerado cada peixe como uma repetição (n=10)

Os peixes foram anestesiados, para biometria inicial e separados em lotes homogêneos de 10 peixes por caixa, com duas refeições diárias (9hrs-17hrs) até saciedade aparente. Ao final dos 60 dias foram submetidos a um jejum de 48 horas para diminuição do conteúdo fecal do trato intestinal e, após, foram sedados para biometria final e cálculo dos índices de desempenho: ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE) e consumo alimentar (CA), aplicados as seguintes fórmulas:

GANHO DE PESO (GP)

$$GP = pf - pi$$

TAXA DE CRESCIMENTO ESPECÍFICO (TCE%)

$$TCE\% = (\ln pf - \ln pi / n^\circ dias) \times 100$$

CONSUMO ALIMENTAR (CA)

$$CA = \sum \text{dieta ingerida diariamente}$$

Onde: pf: peso final; pi: peso inicial; ln= logaritmo natural; \sum = Somatório.

Para análise histomorfométrica (altura das vilosidades e espessura da camada muscular do intestino), foram eutanasiados (overdose de anestésico benzocaína e posterior secção medular) 4 peixes por tratamento, totalizando 16 amostras, para confecção das laminas com os cortes histológicos. Em seguida, foi retirado um fragmento da porção anterior do intestino, que teve suas extremidades presas em uma base de cartolina retangular de modo que mantivesse suas vilosidades expostas para lavagem com solução salina a 0,6% retirando impurezas e fezes presentes. Cada fragmento foi fixado individualmente em solução Alfac (álcool etílico 80% + ácido acético glacial + formaldeído 4%) durante 24 horas, após, conservados em álcool 70%, até o momento do procedimento, onde foram desidratados em banhos de álcoois, e xilol, e posteriormente incluídos e emblocados em parafina. Para realização dos cortes histológicos, foi utilizado um micrótomo com corte a 5 μ m de espessura, os cortes foram fixados em lâminas de vidro e corados com hematoxilina-eosina (HE) (4 lâminas por peixe).

A mensuração da altura das vilosidades correspondeu à distância do ápice das vilosidades, até o início da camada muscular, e a espessura da camada muscular por completa (figura 1 e 2). Estes procedimentos foram realizados em microscopia de luz, com o auxílio do “software” ZEN, ZEN 2012 BlueEdition (Carl ZeissMicroscopy®).

(50) Para a medição das vilosidades intestinais e espessura da camada muscular, foram fotografados cortes no aumento 10 vezes (10x) e 40 vezes (40x) respectivamente, sendo realizada a leitura de 5 cortes por lâmina.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com probabilidade estatística de 5% e em caso de significância, submetidos ao teste Tukey.



Figura 1- Determinação da altura das vilosidades intestinais (μm), aumento microscópico 10x.

Fonte: O autor (2016)

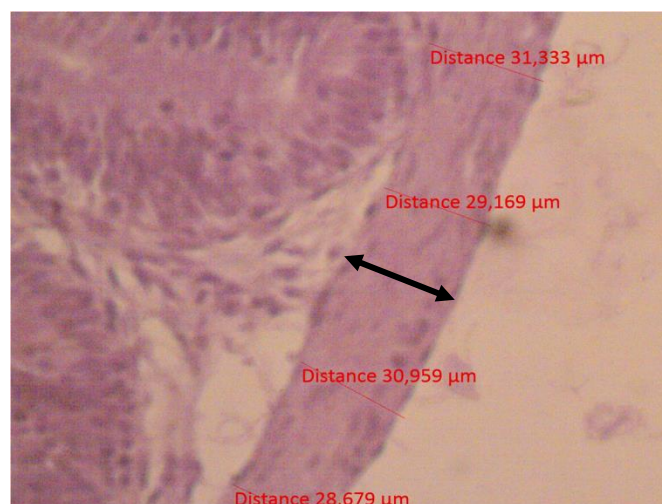


Figura 2- Mensuração da espessura da camada muscular (μm), aumento microscópico 40x

Fonte: O autor (2016)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo verificou que a inclusão na concentração de 1,5% de extrato etanólico de própolis na dieta dos peixes, influenciou de forma positiva para um maior ganho de peso (gráfico 1) em relação aos outros tratamentos ($\alpha=0,05$), abaixo, está a demonstração dos resultados obtidos para ganho de peso (GP) no período experimental de 60 dias.

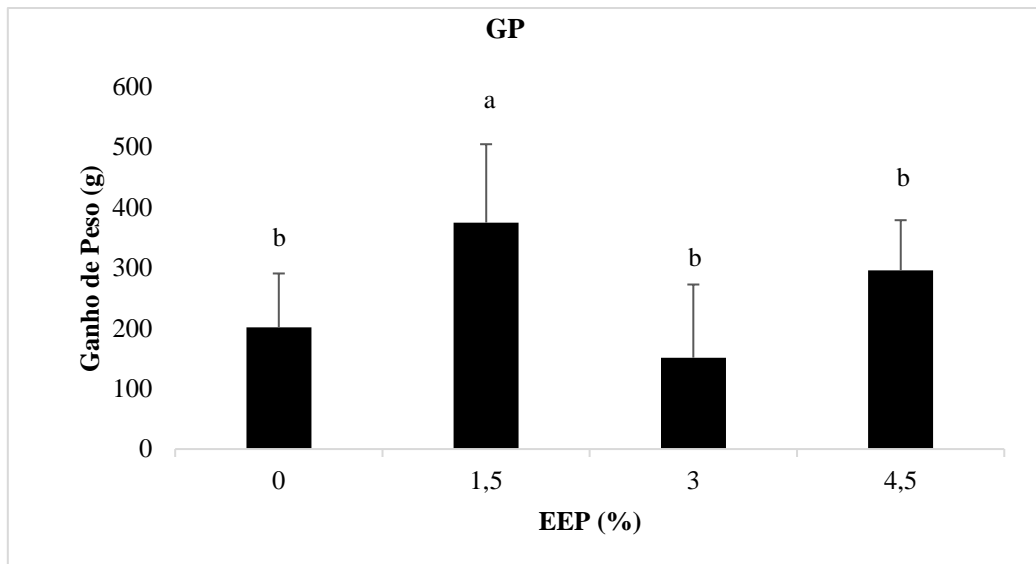


Gráfico 1- Ganho de peso em gramas (GP) de pacus adultos alimentados com diferentes níveis de extrato etanólico de própolis (EEP) (a-b) denota diferença estatística pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

Fonte: O autor (2016)

Já o tratamento sem a inclusão do EEP (0,0), obteve um menor ganho de peso quando comparado ao tratamento de 1,5% de inclusão, assim como os tratamentos com 3,0 e 4,5% de inclusão na dieta, resultando em menores ganhos de peso dentro do período experimental.

Comprovando esse fato, a taxa de crescimento específico (gráfico 2) está descrita abaixo:

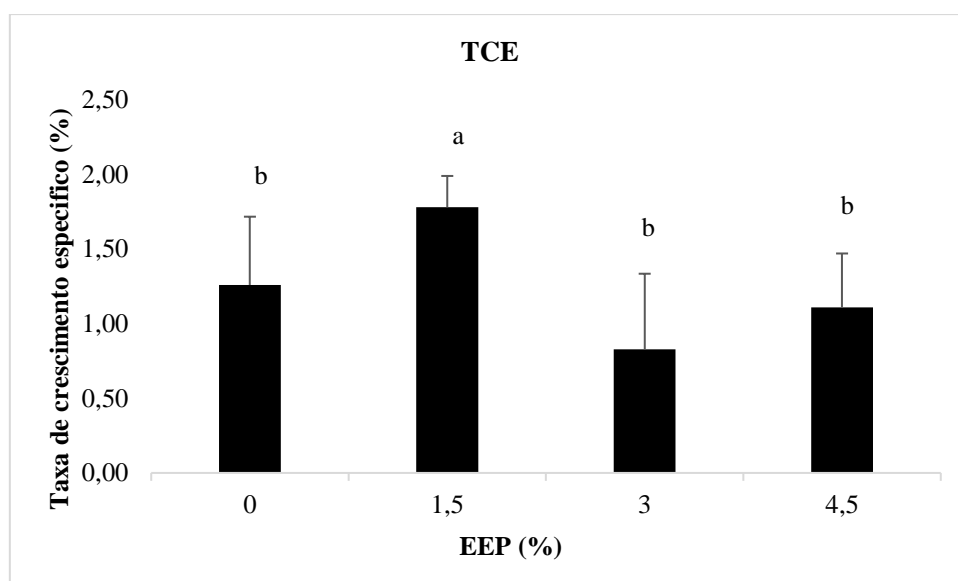


Gráfico 2- Taxa de crescimento (TCE) de pacus adultos alimentados com diferentes níveis de extrato etanólico de própolis (EEP) (a-b) denota-se diferença estatística pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

Fonte: O autor (2016)

Resultados semelhantes ao obtido por (51), em estudo realizado com coelhos da raça Norfolk 2000 (linhagem Botucatu) com a incorporação de extrato alcoólico de própolis na dieta, onde se observou um maior ganho de peso médio diário para os animais suplementados com menores concentrações de inclusão, enquanto os que receberam a dieta contendo maiores concentrações obtiveram os menores ganhos.

Uma explicação para este achado, está relacionada principalmente à ação antibacteriana da própolis, que pode atuar na diminuição pela competição do alimento no lúmen intestinal, reduzindo o número de bactérias. É necessário que haja um equilíbrio da microbiota bacteriana dentro do intestino, afim de evitar processos inflamatórios causados por patógenos que se aderem e ocasionam lesões nas vilosidades intestinais, prejudicando a melhor absorção dos nutrientes do alimentos. (52) A própolis pode ter atuado de forma benéfica contra esses patógenos, proporcionando uma maior digestibilidade do alimento, conferindo um maior ganho de peso e taxa de crescimento específico.

Resultados semelhantes foram observados em rãs-touro e tilápias-do-nylo que demonstraram uma melhora no ganho de peso e conversão alimentar quando comparados a dietas que não continham a adição do extrato. (44)(48)

A própolis é um produto natural produzido pelas abelhas em defesa da colméia, esta substância contém resina com substâncias vitamínicas, sais minerais, compostos fenólicos, ácidos graxos, alcoóis aromáticos e ésteres, destacando-se entre suas principais atividades registradas a ação antibacteriana, antiinflamatória e antifúngica. Os efeitos da melhoria do desempenho zootécnico podem decorrer da ação dessas substâncias no trato digestório sobre a microbiota intestinal, reduzindo a produção de metabólitos que deprimem o crescimento dos animais. As propriedades antioxidantes podem ter inibido de forma positiva a ação das enzimas responsáveis pela produção dos radicais livres, que quando em excesso, passam a atacar células sadias atuando como agentes oxidantes, dessa forma, os compostos fenólicos encontrados na própolis atuam evitando a formação desses radicais. (11)

A tabela 2 demonstra que não houve diferença significativa (P=0,05) no consumo alimentar dos peixes de acordo com seu tratamento.

Tabela 1- Consumo de ração durante os 60 dias experimentais

Tratamentos	Consumo de ração (gramas)
0,0 %	3, 835
1,5 %	3, 861
3,0 %	3, 081
4,5 %	3, 021
Valor P	0, 2823

Fonte: O autor (2017)

O intestino está diretamente relacionado com importantes funções fisiológicas do animal, sendo fundamental sua sanidade, para que ocorra um bom aproveitamento dos nutrientes fornecidos pela dieta e conseqüentemente o desenvolvimento eficiente do animal, (53) relatam que quanto maior o número, e tamanho (altura) das vilosidades, mais efetivo será o processo de digestão, favorecendo a absorção dos nutrientes pela maior superfície de contato dos alimentos com as vilosidades e enzimas digestivas ali presentes.

A análise de morfologia do intestino (tabela 3) demonstra que não houve alterações significativas no tamanho das vilosidades entre os tratamentos.

Tabela 3 - Mensuração da altura das vilosidades intestinais (μm).

Tratamentos	Mensuração (μm)	Desvio (μm)
0,0 %	651.326 a	137.759
1.5 %	695.936 a	176.144
3,0 %	653.871 a	172.001
4,5 %	673.444 a	119.902

Fonte: O autor (2017)

A análise de morfometria (gráfico 3), demonstrou que os peixes tratados com 1,5% de EEP, apresentaram uma maior espessura da camada muscular, quando comparados aos peixes que ingeriram 0,0; 3,0 e 4,5% de EEP. Este fato pode ter sido influenciado por um melhor funcionamento e maior fortalecimento da camada muscular nesta concentração, em decorrência dos movimentos peristálticos do intestino para degradação do alimento.

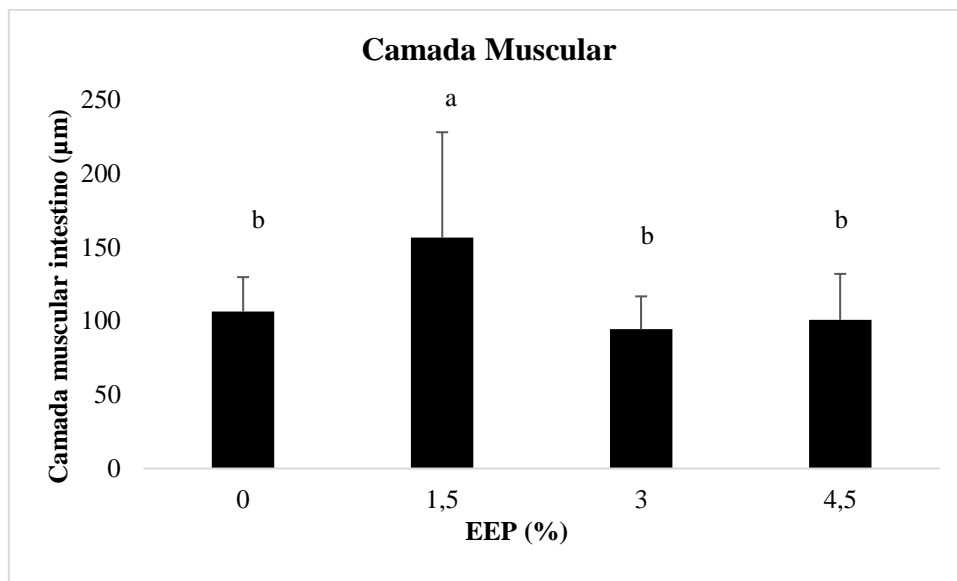


Gráfico 3 - Mensuração da espessura da camada muscular de pacus adultos alimentados com diferentes níveis de extrato etanólico de própolis (EEP). (a-b) denota diferença estatística pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

Fonte: O autor (2016)

Quando as condições de ambiente são controladas ocorre uma diminuição na produção de metabólitos, causada pelo menor desafio sanitário e condições não tão estressantes quando comparados a sistemas intensivos de produção (lotação, amônia elevada, reprodução artificial, classificação dos peixes...), assim como sugerido por. (54) Este fator pode ter contribuído para que não houvesse mudanças significativas para o tamanho das vilosidades dos peixes.

6. CONCLUSÃO

A inclusão do extrato etanólico de própolis na dieta, mostrou-se eficiente como promotor de crescimento natural e provoca alterações na morfologia do epitélio intestinal, tornando possível sua utilização na concentração de 1,5% na alimentação dos pacus nas condições experimentais.

REFERÊNCIAS

- 1 TESSLER, M.; GOYA, S. C. **Processos costeiros condicionantes do litoral brasileiro**. Revista do Departamento de Geografia, v. 17, p. 11-23, 2011. Disponível em: <<http://www.periodicos.usp.br/rdg/article/view/47271/51007>> acesso em: 20 de abr. de 2017 as 19:30hrs.
- 2 KUBITZA, F. **Panorama da Aqüicultura. Aqüicultura no Brasil**. Rio de Janeiro, Revista. v. 25, n. 150, p.10-15. 2015. Disponível em: <<http://www.ferrazmaquinas.com.br/en/imagens/uploads/conteudos/42/arquivo/20151009160433oLNAnjgD3p.pdf>> Acesso em 24 de out. de 2016 as 20:30 hrs.
- 3 RESENDE, E.K. **Migratory fishes of the Paraguay–Paraná Basin, excluding the Upper Paraná Basin**. P. 99–156. In: CAROLSFELD, J.; HARVEY, B.; ROSS, C. & BAER, A. (Eds.) **Migratory fishes of South America: biology, fisheries, and conservation status**. Victoria, Canada: World Fisheries Trust/IDRC/World Bank, 372 p. 2003.

- 4 SEBRAE. **Sistema intensivo de produção na piscicultura**, 2007. Disponível em: <http://www.sebraemercados.com.br/sistema-intensivo-de-producao-na-piscicultura/>> Acesso em: 21 de out. de 2016 as 19:00hrs.
- 5 THIAENG, C. et. al. **Introduction and history of cage culture**. In: WOO, P.T.K.; BRUNO, D.W.; LIM, L.H.S. (Ed). Diseases and disorders of finfish in cage culture. Wallingford. CAB International, cap 1, pág.1-40, 2002
- 6 OBA, E. T.; MARIANO, W. dos S.; SANTOS, LRB dos. **Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável**. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá, p. 226-247, 2009.
- 7 BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria-RS: Ed. Da UFSM. 3º Ed.,pág. 40-41. 2013.
- 8 BOYDE, C.E.; QUEIROZ, J.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. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Ed. TecArt, cap. 3, pag. 25-44, 2004
- 9 BARTH, O.M.; DUTRA, V.M.L.; JUSTO, R.L. **Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil meridional**. Cienc. Rural, Cap.29, pág 663-667, 1999.
- 10 PACKER, J. F.; LUZ, M.M.S. **Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural**. Rev Bras Farmacogn. vol.17 pág.102-107, 2007.
- 11 KANBUR, M.; ERASLAN, G.; SILICI, S. **Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats**. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 72, n. 3, p. 909-915, 2009.
- 12 BANKOVA, V.; POPOV, S.; MAREKOV, N.L. **Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis**. Phytochemistry, v.28, p.871-873, 1989.
- 13 ARAUCO, R. L. R. et al. **Histologia do rim, fígado e intestino de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*) alimentados com dietas contendo própolis**. Rev.Ciencia Rural. Cap 37. Pág 1436-1441, 2007.
- 14 FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014). **Fishery and aquaculture statistics**. FAO yearbook, Roma-IT, 2012.
- 15 IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**, 2015. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf> Acesso: 26 de jun. de 2017 às 20:49 hrs.
- 16 CASACA, J. de M.; TOMAZELLI J. O.; WARKEN, J. A. **Policultivos de peixes integrados: o modelo no oeste de Santa Catarina**. Mércur indústria gráfica - Chapecó, 2005.

- 17 CASTAGNOLLI, N.; ZUIM, S.M.F. **Consolidação do conhecimento adquirido sobre o pacu** (*Colossoma mitrei*, Berg 1895). FCAV/UNESP. Jaboticabal, SP. Pag. 26, 1985.
- 18 VAZZOLER, A. D. M.; AGOSTINHO, A. A.; HAHN, N. S. Primeira maturação gonadal, períodos e áreas de reprodução. **In: A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e sócios econômicos.** Ed.UEM, Maringá PR. pág. 249-265, 1997
- 19 CATELLA, A.C.; PEIXER, J.; PALMEIRA, S. da S. **Sistema de controle de pesca de Mato Grosso do Sul**, pesca/MS–1 maio/1994 à abril/1995. Corumbá, MS: embrapa–cpap/semades–MS. Pág. 49, 1996.
- 20 CARNEIRO, D.J.; WAGNER, P.M.; DIAS, T.C.R. **Efeito da densidade de estocagem e do nível de proteína bruta na dieta, no desempenho de produção de pacu** (*Piaractus mesopotamicus*): In Encontro Nacional de Aqüicultura, Anais, 52-61. n 84, 1995.
- 21 SAINT-PAUL, U. **The neotropical serra salmid *Colossoma macropomum* a promising species for fish cultures in Amazônia.** Anim. Res. Dev. Cap.22, pág. 7-35,1985.
- 22 URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F.; CYRINO, J. E. P. **Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva.** Sociedade Brasileira de Aqüicultura e biologia Aquática. Ed. Tecart, São Paulo, p. 171-193, 2004.
- 23 SILVA, L. P. da; NÖRNBERG, J. L. **Prebióticos na nutrição de não ruminantes.** rev.Ciênc. rural, vol. 33, n. 5, pág. 983-990, 2003.
- 24 PINTO, A. C. V. de. et. al. **Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis.** Ciência Rural, vol.34, pág.159-163, 2004.
- 25 LUSTOSA, S. R. et. al. **Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 3, 447-454, 2008.
- 26 GHISALBERTI, E.L. **Própolis: a review** *Bee World*, vol.60, pag.59-84. 1979.
- 27 PARK Y. K. et al. **Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal.** Ciência Rural vol.2 pág.997-1003, 2002.
- 28 EL HADY, F. K. Abd; HEGAZI, A. G. **Egyptian propolis 2.Chemical composition, antiviral and antimicrobial activities of East Nile delta propolis.**Z. Naturforsch., Cap.57 Pág 386-394, 2002.
- 29 BONVEHÍ, J.S.; COLL, F.V. **Phenolic composition of propolis from China and South America.**Z. Naturforsch.,cap 49, pág 712-718, 1994.
- 30 KARTAL, M.; KAYA, S.; KURUCU, S. GC-MS. **Analysis of propolis samples from two different regions of Turkey.** Z. Naturforsch., Cap.57, pág. 905- 909, 2002.

- 31 AGA, H. et. al. **Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis.** Biosci.Biotechnol. Biochem. Cap.58. pág 945-946. 1994.
- 32 BANKOVA, V. et. al. **Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results.** Z. Naturforsch., cap.57. Pág 530-533, 2002.
- 33 SALATINO, A. et.al. **Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis.** 2 °ed, Cambridge: Oxford University Press. 33–38, 2005.
- 34 SILICI, S.; KUTLUCA, S. **Chemical composition and antibacterial Activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region.**Journal of ethnopharmacology, vol.99, pág.69-73, 2005.
- 35 MENEZES, H. **Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas.**Arquivos do Instituto Biológico, vol.72, pág.405-411, 2005.
- 36 BIANCHINI, L.; BEDENDO, I. P. **Efeito Antibiótico da Própolis sobre Bactérias Fitopatogênicas.** Scientia Agric. v.55, p.149-152, 1998.
- 37 GRANGE, J. M.; DAVEY, R. W. **Antibacterial properties of propolis (bee glue).**Journal of the royal society of medicine, v.83, p.159-160, 1990
- 38 ENDLER, A. L. et. al.**Teste de eficácia da própolis no combate a bactérias patogênicas das vias respiratórias.** UEPG.Ponta Grossa-PR.Ciências Biológicas e da Saúde, v.9, p.17-20, 2003.
- 39 TAKAISI-KIKUNI, N. B.; SCHILCHER, H.**Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance.** Planta medica, vol.60, n.3, pág.222-227, 1994.
- 40 MIRZOEVA, O.K.; GRISHANIN, R.N.; CALDER, P.C. **Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria.** Microbiological. Cáp.152, pág. 239-246, 1997.
- 41 UCZAY, J. et. al. **Própolis em dietas para o jundiá= Propolis in diets for silver catfish.** Bioscience Journal, UFSM-RS.v. 30, n. 6, 2014.
- 42 MERESTA, L.; MERESTA, T.; BURDZINSKI, J.; CHMURZYNSKI, P. **Treatment of mastitis in cows using an extract of propolis.** MedycynaWeterinaryjna, Cap.45, pág 392-395, 1989.
- 43 BIAVATTI, M. et. al. **Preliminary studies of alternative feed additives for broilers: Alternanthera brasiliana extract, propolis extract and linseed oil.** Rev. Bras. Cienc.Avic., V. 5, pág 147- 151, 2003.
- 44 ARAUCO, L.; STÉFANI, M.; NAKAGHI, L. **Efeito do extrato hidroalcoólico de própolis no desempenho e na composição leucocitária do sangue de girinos de rã-**

touro (*Rana catesbeiana*). Acta Scientiarum: animal sciences, Maringá,-PR. v. 29, n. 2, p. 227-234, 2007.

45 DENG, J. et. al. **Effect of ethanolic extract of propolis on growth performance and plasma biochemical parameters of rainbow trout**. Fish physiol biochem, vol. 37, pág. 959–967, 2011.

46 KASHKOOLI, O. B. et.al. **Long-term effects of propolis on serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**. Ecotox. Environ. Safe. v. 74, p. 315–318, 2011.

47 MEURER, F. et. al. **Brown propolis extract in feed as a growth promoter of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, (Linnaeus 1758) fingerlings**. Aquaculture Research, vol. 40, n. 5, pág. 603-608, 2009.

48 AZZA, M.M.; ABD-EL-RHMAN. **Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus***. Fish & Shellfish Immunology, Amsterdam, pag.1-6, 2009.

49 PARK, Y. K.; IKEGAKI, M. **Preparation of water and ethanolic extracts of propolis and evaluation of the preparation**. Biosci. Biotechnol. Biochem., Campinas-SP. V. 62. P.2230-2232, 1998.

50 MELLO, H. de. et. al. **Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo**. Pesq. Vet. Bras, v. 33, n. 6, p. 724-730. Departamento de patologia veterinária, faculdade de ciência agrária e veterinária, universidade estadual Paulista, via de acesso prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal- SP, 2013.

51 GARCIA, R. C. et. al. **Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre o perfil bioquímico e o desempenho de coelhas jovens**. Acta Scientiarum. Animal Sciences, v. 26, n. 1, p. 57-67, 2004.

52 OLIVEIRA, P.B. **Influência de fatores antinutricionais de alguns alimentos sobre o epitélio intestinal e o desempenho de frangos de corte**. 1998. 78f. (Dissertação). Maringá. 1998.

53 MACARI, M. **Fisiologia do Sistema Digestivo das Aves**. Aves e Ovos, 08/09, 2-20, 1999.

54 MESQUITA, R. C. T. et. al. **Vantagens do cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com mínima liberação de efluentes**. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 10, n. 3, p. 447-454, 2016.