

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**UTILIZAÇÃO DO PREBIÓTICO FLAVOFEED® COMO SUPLEMENTO
DIETÁRIO PARA JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO *Oreochromis niloticus*.**

**Thiago El Hadi Perez Fabregat
Orientador: João Batista K. Fernandes**

**Dissertação apresentada ao Centro de
Aqüicultura da UNESP, como parte das
exigências para obtenção do Título de Mestre
em Aqüicultura.**

**JABOTICABAL
Estado de São Paulo – Brasil
2006**

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. João Batista Kochenborger. Fernandes, pela orientação, dedicação, confiança e também por todas as oportunidades oferecidas para meu desenvolvimento intelectual e profissional;

À professora das Bancas de qualificação e defesa, Prof. Dra. Silvana Martinez B. Artoni, pela disposição em auxiliar-me nas análises morfométricas, e principalmente pelo incentivo e confiança;

À professora da Banca de qualificação, Dra. Teresa Cristina R. Dias Koberstein pela valiosa colaboração.

À doutora Rose Meire Vidotti, membro Banca de defesa, pelas sugestões ao trabalho e também pelo apoio desde o início desta jornada;

À empresa Quinabra[®] - Química Natural Brasileira Ltda, pela doação do produto e apoio prestado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro;

Aos pós-graduandos Laurindo André Rodrigues, Fabiano Bendhack, Ana Paula Baldan e Fabiana Garcia, pelo companheirismo e auxílio inestimável na condução deste estudo;

A todos os colegas, funcionários, estagiários e professores do CAUNESP, pela ótima convivência, aprendizado e trocas de experiências durante estes anos;

Aos integrantes das republicas Karkanela, Habitat, Madalena, Pocilga e Tcheca pela camaradagem e pelos ótimos momentos de convivência passados juntos;

A toda minha família que sempre me apoiou e deu o suporte suficiente para seguir enfrente nesta jornada;

Aos amigos de São Paulo, que mesmo estando longe nunca perderam a importância em minha vida;

A todos aqueles que direta ou indiretamente auxiliaram na condução deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. Aditivos e promotores de crescimento na alimentação animal.....	5
3. OBJETIVOS.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
4.1. Animais e instalações.....	13
4.2. Delineamento experimental.....	13
4.3. Avaliações físico-químicas.....	14
4.4. Dietas experimentais.....	14
4.5. Ensaio de desempenho.....	15
4.6. Composição corporal.....	16
4.7. Avaliações hematológicas.....	17
4.8. Avaliações morfométricas.....	18
4.9. Análises estatísticas.....	18
5. RESULTADOS.....	20
5.1. Parâmetros físico-químicos.....	20
5.2. Desempenho produtivo.....	20
5.3. Composição corporal.....	21
5.4. Parâmetros hematológicos.....	21
5.5. Parâmetros morfométricos.....	22
6. DISCUSSÃO.....	24
6.1. Parâmetros físico-químicos.....	24
6.2. Desempenho produtivo.....	24
6.3. Composição corporal.....	26
6.4. Parâmetros hematológicos.....	27
6.5. Parâmetros morfométricos.....	28
7. CONCLUSÕES.....	29

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
---	-----------

RESUMO

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a eficiência da suplementação com o prebiótico Flavofeed[®] sobre o desempenho, composição corporal, parâmetros hematológicos e morfometria de duodeno de juvenis tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em relação a uma dieta controle. Foram utilizados 240 juvenis (11,73±2,03 g) distribuídos em 24 aquários experimentais de polietileno de 100 litros equipados com sistema de aeração e aquecedores para manutenção da temperatura constante. Os peixes foram divididos em dois grupos e alimentados durante 84 dias com dietas isocalóricas (3149,86 kcal ED/ kg) e isoprotéicas (27,21% PD) contendo ou não Flavofeed[®]. Na dieta teste foi incluído 0,05% de Flavofeed[®], quantidade recomendada pelo fabricante, e na dieta controle houve inclusão de material inerte (bagaço de cana) na mesma proporção. As dietas foram extrusadas na fábrica de ração da UNESP de Jaboticabal. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com três blocos (classes de peso) e quatro repetições por bloco, sendo que cada repetição era constituída por dez peixes. A análise estatística dos resultados foi realizada com a utilização do programa estatístico SAS 8.0. Os dados foram submetidos à análise de variância e as diferenças (P<0,05) entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. A suplementação com prebiótico não afetou de forma significativa (P>0,05%) o desempenho dos juvenis de tilápia do Nilo. Entretanto, foi constatado efeito sobre o metabolismo de gordura, uma vez que o índice gorduro-viscerossomático foi significativamente menor nos peixes alimentados com a ração contendo Flavofeed[®]. Não foram observadas alterações significativas (P>0,05) nos parâmetros hematológicos. O uso do produto elevou significativamente a altura das vilosidades do duodeno em relação à dieta controle, resultado que normalmente implica em maior superfície de absorção e melhor aproveitamento dos nutrientes. Mais estudos em condições de desafio sanitário são necessários para confirmar estes efeitos e verificar possíveis respostas sobre o desempenho.

Palavras-chave: composição corporal, desempenho, hematologia, imunoestimulante, morfometria, peixe.

ABSTRACT

The current study was conducted with the aim to evaluate the efficiency of the supplementation with the prebiotic Flavofeed[®] over the performance, corporal composition, hematological parameters and duodenal morphometry of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles in relation to a control diet. The total of 240 juveniles (11,73±2,03 g) were distributed in 24 experimental tanks (100 liters) equipped with air and heater system. The fishes were shared in two groups that are fed during 84 days with isocaloric (3149,86 kcal ED/ kg) and isoproteic (27,21% PB) diets containing or not Flavofeed[®]. In the test diet 0,05% of Flavofeed was included by the manufacturer indication, and in the control diet was made the inclusion of an inert material (sugarcane bagasse) in the same proportion. The experimental design was in randomized blocks, with four repetitions per block and ten fish per repetition. Statistical analysis was conducted with the program SAS 8.0. All data were subjected to analysis of variance and the difference (P<0,05) between the means were compared by the Tukey's multiple range test. The prebiotic supplementation didn't affect (P>0,05) the performance of Nile tilapia juveniles. However, was found effect in the fat metabolism, once the vicerosomatic index was significantly (P<0,05) smaller in the fish fed with the diet containing Flavofeed[®]. Any significant (P>0,05) changes were found in the hematological parameter studied. The use of the prebiotic increased the duodenal villosity height in relation to the control diet, result that normally implicate in bigger absorption surface and better nutrients utilization. However studies in sanitary challenges condition are necessary to confirm these results.

Key-words: corporal composition, fish, hematology, immunoestimulants, morfometry, performance.

1. INTRODUÇÃO

O mercado consumidor esta cada vez mais exigente e existe uma demanda crescente por alimentos mais saudáveis, sem resíduos de antibióticos e agrotóxicos. Algumas substâncias imunoestimulantes vêm sendo utilizadas como alternativa aos antibióticos promotores de crescimento, entre elas determinados prebióticos.

Na aquicultura a utilização de alimentos para promover a saúde ainda é uma novidade. O primeiro estudo com probióticos foi realizado por Kozasa (1986) e o assunto rapidamente despertou grande interesse (Gatesoupe, 1999; Irianto e Austin, 2002; Lara-Flores et al., 2003). Os probióticos são definidos como suplemento alimentar de microrganismos vivos que afetam benéficamente o animal hospedeiro melhorando o equilíbrio da microflora intestinal (Fuller, 1989).

As evidências de efeitos positivos dos probióticos deu origem aos prebióticos, ingredientes não digestíveis da dieta que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e a atividade de bactérias benéficas para o trato gastrointestinal, melhorando a saúde do hospedeiro (Gibson e Roberfroid, 1995).

Para uma substancia ser classificada com prebiótico, ela não pode ser hidrolisada ou absorvida na parte superior do trato gastrointestinal, e deve ser um substrato seletivo para bactérias comensais benéficas do cólon, afetando o crescimento ou o metabolismo, sendo capaz de alterar a microflora intestinal favorável e induzir a efeitos benéficos intestinais ou sistêmicos, ao hospedeiro (Dionizio et al., 2002).

De acordo com Silva e Nörnberg (2003) os efeitos resultantes do uso dos prebióticos são evidenciados pelo crescimento das populações microbianas benéficas, pela

melhora nas condições luminais, nas características anatômicas do trato gastrointestinal e no sistema imune e, em alguns casos, pela melhora no desempenho animal.

Entretanto, a utilização de prebióticos ainda é um conceito novo na aquíicultura e as pesquisas são bastante limitadas (Li e Gaitlin, 2004). Dentro desta categoria o Flavofeed[®] é um prebiótico promotor de crescimento para frangos de corte produzido pela Quinabra[®]-Química Natural Brasileira Ltda, com propriedades antioxidantes, imunoestimulantes e acidificantes. O produto possui em sua composição bioflavonóides cítricos, mananoligossacarídeos e beta-glucanas, ácidos linoleico e oleico e os ácidos ascórbico e cítrico, caracterizando-se como prebiótico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aditivos e promotores de crescimento na alimentação animal

Moore et al. (1946) descobriram que a adição de doses subclínicas de diferentes antibióticos em dietas para frangos melhorou significativamente o crescimento e a conversão alimentar.

Ahmad e Matty (1989) testaram dois antibióticos como promotores de crescimento em dietas para a carpa (*Cyprinus carpio*) e verificaram que houve melhora no crescimento somente na dieta com elevada proteína (40%). O mesmo resultado não foi encontrado para a dieta contendo baixa proteína (25%), sugerindo que o uso de antibióticos possibilita o aproveitamento para o crescimento do excesso de proteína da dieta que normalmente seria utilizado como fonte de energia.

Rawles et al. (1997) avaliaram a utilização de dois antibióticos, como promotores de crescimento em dietas para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) e não encontraram melhora no desempenho em relação aos peixes que receberam a dieta controle. Concentrações de antibióticos acima do limite legal foram encontradas nos tecidos de todos os peixes que receberam o nível recomendado pelo fabricante e em muitos peixes que receberam doses menores.

A incidência de resistência em bactérias gram-negativas no trato gastrointestinal e na água de cultivo do bagre do canal foi investigada por McPhearson et al. (1991), que constataram que em tanques previamente tratados com antibióticos a porcentagem de bactérias resistentes a um ou múltiplos antibiótico foi significativamente maior em relação aos tanques sem história recente de aplicação dos mesmos. A menor incidência de bactérias

resistentes foi encontrada nas amostras coletadas de seis rios do sudeste dos Estados Unidos.

O conceito de probiótico foi originariamente definido por Parker (1974) como “organismos e substâncias que contribuem para o balanço intestinal”. Mais tarde a definição foi restrita para “suplemento alimentar de microrganismos vivos que afetam benéficamente o animal hospedeiro melhorando o equilíbrio da microflora intestinal” (Fuller, 1989).

Trust et al. (1979) isolaram e identificaram microrganismos anaeróbicos do trato gastrointestinal de três espécies: da carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*), do kinguio (*Carassius auratus*) e da truta (*Salmo gairdneri*). A lista incluía *Actinomyces*, *Bacterioides*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* e *Peptostreptococcus*, gêneros encontrados também na microflora gastrointestinal de outros vertebrados. Ramirez e Dixon (2003) estudaram a produção de enzimas pela microflora intestinal do apaiari (*Astronotus ocellatus*), acará bandeira (*Pterophyllum scalare*) e do linguado (*Paralichthys lethostigma*), e concluíram que as bactérias anaeróbicas intestinais devem exercer um papel importante na digestão destes peixes, produzindo enzimas para a quebra e absorção de nutrientes.

Os prebióticos atuam indiretamente sobre o sistema imune e enzimático, pois estimulam o crescimento das populações de bactérias benéficas, que têm a capacidade de produzir substâncias com propriedades imunoestimulatórias e interagir com o sistema imune em vários níveis, incluindo a produção de citocinas, a proliferação de células mononucleares, a fagocitose macrofágica, a eliminação e a indução de síntese de grandes quantidades de imunoglobulinas. (Silva e Nörnberg, 2003).

As principais fontes de prebióticos são alguns açúcares absorvíveis ou não, fibras, peptídeos, proteínas, álcoois de açúcares e os oligossacarídeos (Dionizio et al., 2002). Na

nutrição animal, entre os prebióticos mais estudados como aditivos estão os frutoligosacarídeos, glucoligosacarídeos e os mananoligosacarídeos (Budiño et al., 2004).

Gibson e Roberfroid (1995) relataram que os mananoligosacarídeos são pequenos polímeros de manose encontrados em maior quantidade em componentes de células de leveduras. Leslie (1996) verificou que a microbiota benéfica pode utilizar os mananoligosacarídeos como fonte de energia, ao contrario da maioria dos patógenos.

Existem evidências de que determinados oligossacarídeos, entre eles os mananoligosacarídeos, atuam diretamente sobre algumas populações de bactérias patogênicas, pois eles se ligariam às fímbrias que as bactérias patogênicas utilizam para fixação, tornando-as indisponíveis para a aderência no trato gastrointestinal, fazendo com que estas sejam eliminadas por exclusão competitiva (Spring et al., 2000; Gibson e Roberfroid, 1995).

O sistema imune dos peixes possui mecanismos de defesa específicos e não específicos. Quando determinado microrganismo invade o organismo pela primeira vez, o mecanismo de defesa não específico é mais importante, uma vez que a resposta imune específica requer um maior período para o acúmulo de anticorpos e ativação de células específicas (Anderson e Jeney, 1993).

Os imunostimulantes compreendem um grupo de substâncias biológicas ou sintéticas que estimulam a resposta imune não específica (Siwicki et al., 1994). Os imunostimulantes estudados para os organismos aquáticos incluem agentes químicos, componentes de bactérias, polissacarídeos, extratos animais e vegetais, fatores nutricionais e alguns hormônios (Sakai, 1999).

As glucanas são macromoléculas encontradas nas leveduras, formadas por blocos de glicose unidos através de ligações β (1-3) e β (1-6). Alguns estudos mostram que a levedura é capaz de melhorar a resposta imunológica e o crescimento de várias espécies de peixes (Li e Gatlin III, 2003).

A suplementação com frutoligossacarídeos em dietas para frangos de corte não afetou significativamente o desempenho, conversão alimentar, sobrevivência e deposição de gordura abdominal em relação à dieta controle (Waldroup et al., 1993).

Siwicki et al (1994) estudaram o efeito de β -glucanas e dois tipos de leveduras sobre a resposta imune não específica da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). O hematócrito não diferiu significativamente entre os tratamentos e a porcentagem de linfócitos foi significativamente maior nas dietas contendo levedura (*Saccharomyces cerevisiae*).

O efeito de dois imunoestimulantes, β -glucanas e levedura, sobre o resposta imune não específica e a resistência contra a infecção por *Edwardsiella ictaluri* foi estudada no bagre do canal por Duncan e Kelsius (1996). Os autores constataram que a porcentagem de eritrócitos foi significativamente maior na dieta controle em relação aos outros tratamentos e o número de linfócitos foi significativamente maior nos peixes alimentados com dietas contendo β -glucanas e levedura. A suplementação com β -glucanas elevou a migração e fagocitose do macrófagos e neutrófilos. A melhora da resposta do sistema imune provocada pela alimentação com imunoestimulantes, entretanto não melhorou a resistência contra a infecção por *Edwardsiella ictaluri*.

Macari e Maiorka (2000) observaram maior ganho de peso e altura das vilosidades nos três segmentos do intestino delgado em frangos de sete dias suplementados com 0,2%

de mananoligossacarídeos em relação aos animais que receberam a dieta controle. A conversão alimentar não variou entre os tratamentos.

Dionizio et al. (2002) testaram diferentes prebióticos (frutoligossacarídeos, lactose, manose e sacarose) em dietas para frangos de corte e não apuraram diferença significativa para o ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e deposição de gordura abdominal em relação a dieta controle e a dieta contendo antibiótico.

O efeito da utilização de levedura íntegra de cana de açúcar e seus derivados (autolizado e parede celular) em dietas para juvenis de tilápia do Nilo foram estudados por Carvalho (2002) em sua dissertação de mestrado. Neste trabalho as leveduras foram utilizadas como fonte protéica, substituindo 25% da proteína bruta total da dieta. O ganho de peso e o consumo de ração foram significativamente maiores nos peixes alimentados com as dietas contendo parede celular e autolizado, e o teor de proteína bruta da carcaça dos peixes que receberam a dieta contendo parede celular também foi significativamente maior.

Lara-Flores et al. (2003) estudaram a utilização de levedura e um probiótico comercial na dieta de larvas de tilápia do Nilo e os dois aditivos melhoraram significativamente o crescimento em relação a uma dieta controle, embora o maior ganho de peso e conversão alimentar tenham sido obtido com a dieta suplementada com levedura.

A utilização de três níveis de levedura desidratada (1, 2 e 4%) em dietas de juvenis do híbrido “striped bass” (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) foi estudada por Li e Gatlin III (2003). Os autores concluíram que a levedura interfere de forma positiva no desempenho, eficiência alimentar e resistência contra bactérias. Além disso, os resultados dos parâmetros imunológicos indicaram que ela pode ser administrada por períodos relativamente longos sem resultar em imunossupressão.

A adição de prebiótico, probiótico e simbióticos em dietas de leitões desmamados não influenciou significativamente os valores do hemograma em relação a dieta controle (Budiño et al., 2004).

Jaramillo Jr e Gaitlin III (2004) verificaram que a suplementação com β -glucanas por seis semanas diminuiu significativamente o ganho de peso e a conversão alimentar e não afetou a resistência a doenças e a atividade de lisozima no plasma do “striped bass”.

Andrade et al. (2004) testaram a utilização de dois aditivos (promotor de crescimento e simbiótico) em dietas para frangos de corte contendo dois níveis de substituição do milho por silagem de grãos úmidos. A dieta contendo simbiótico apresentou ganho de peso significativamente maior em relação a dieta sem aditivo, entretanto foi significativamente menor em relação a dieta contendo promotor de crescimento. O desenvolvimento do trato gastrointestinal não apresentou diferença significativa entre os tratamentos.

Em estudo realizado por Li e Gaitlin III (2004) para avaliar a utilização do prebiótico GrobionicTM AE e da levedura parcialmente autolizada em dietas para o “striped bass”, os autores verificaram que o ganho de peso e a sobrevivência não diferiram significativamente entre os tratamentos após sete semanas de experimento. A conversão alimentar foi significativamente melhor para a dieta contendo prebiótico em relação à dieta basal. Paralelamente ao ensaio de desempenho foi realizado um desafio com a bactérias e os peixes que receberam as dietas contendo prebiótico ou levedura apresentaram sobrevivência significativamente maior em relação a dieta basal.

Posteriormente, Li e Gaitlin III (2005) testaram a eficiência do prebiótico Grobionic[®]-A e da levedura parcialmente autolizada como suplemento alimentar para juvenis de “striped bass” expostos a infecção crônica por *Mycobacterium marinum* e

constataram que com a dieta contendo prebiótico e a com dieta contendo 2% de levedura de cerveja houve tendência de melhora no ganho de peso, entretanto a diferença entre as médias não foi significativa. A conversão alimentar foi significativamente melhor somente para a dieta contendo 2% de levedura de cerveja. A utilização do prebiótico elevou significativamente a sobrevivência, sugerindo seu potencial para uso na aquíicultura.

Gaiotto (2005) estudou a inclusão de dois níveis (2,5 e 5%) de levedura integral desidratada e seus derivados, parede celular de levedura e autolizado de levedura, em dietas para juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*). A autora encontrou efeito significativo sobre a composição de carcaça, taxa de crescimento específico, sobrevivência e consumo de ração. A dieta controle apresentou a menor taxa de sobrevivência, podendo-se inferir que a levedura e seus derivados podem melhorar o sistema imunológico dos pintados.

3. OBJETIVOS

A utilização de aditivos na alimentação de peixes ainda apresenta resultados bastante diversos e o modo de ação dos prebióticos não está bem elucidado. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência do uso do prebiótico composto Flavofeed[®] sobre o desempenho, composição corporal, hematologia e morfometria de duodeno de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em relação a uma dieta sem prebiótico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa de Peixes Ornamentais do Centro de Aqüicultura da UNESP de Jaboticabal –SP por um período de 84 dias, de 29 de setembro a 16 de dezembro de 2004.

4.1. Animais e instalações

Foram utilizados 240 juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) ($11,73 \pm 2,12$ g) alojados em 24 aquários experimentais de polietileno com capacidade volumétrica de 120 litros, equipados com sistema de aeração proveniente de um compressor radial e aquecedores para manutenção da temperatura (27°C). Para um maior controle da heterogeneidade entre as repetições os peixes foram divididos em três classes de peso ($9,68 \pm 0,28$ g; $11,22 \pm 0,46$ g; $14,30 \pm 0,76$ g).

Os juvenis de tilápia, sexualmente revertidos para machos, foram produzidas no Setor de Tilapicultura do CAUNESP - Jaboticabal.

4.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi em blocos casualizados (classes de peso), com três blocos e quatro repetições por bloco, sendo que cada repetição era constituída por dez peixes. Os peixes foram divididos em dois grupos que foram alimentados com dietas contendo (T1) ou não prebiótico (T0).

4.3. Avaliações físico-químicas da água

A temperatura média dos aquários foi aferida diariamente com um termômetro de máxima e mínima. As determinações de alcalinidade total (mg de CaCO₃/L), amônia (µg/L), oxigênio dissolvido (mg O₂/L) e potencial hidrogênionico (pH) foram realizadas quinzenalmente.

4.4. Dietas experimentais

A composição química dos ingredientes utilizados nas formulações das dietas foi determinada no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal – UNESP, segundo as normas da AOAC (1995)

Tabela 1. Ingredientes e composição das dietas experimentais.

Ingredientes	(%)
Farinha de peixe	11,00
Farelo de soja	44,35
Milho	29,00
Farelo de trigo	11,00
Óleo de soja	1,60
Supl. vitamínico e mineral ¹	1,00
Fosfato bicálcico	2,00
Flavofeed [®] / Bagaço de cana	0,05
Total	100,00
Composição calculada/analísada	
Matéria seca	88,94
Proteína bruta	30,19
Proteína digestível	27,21
Extrato etéreo	4,83
ENN ³	40,85
Fibra bruta	4,16
Cálcio	1,47
Fósforo	0,85
Energia bruta (kcal/kg)	4035,85
Energia digestível (kcal/kg)	3149,86

¹Suplemento vitamínico e mineral: Vit. A - 5000.000 UI; Vit. D₃ - 200.000 UI; Vit. E - 5.000 UI; Vit. K₃ - 1.000 mg; Vit C - 15.000 mg; Vit B₁₂ - 4.000 mg; Vit. B₁ - 1.500 mg; Vit. B₂ - 1.500 mg; Vit. B₆ - 1.500 mg; Biotina - 50 mg; Ácido fólico - 500 mg; Ácido pantotêmico - 4000 mg; B.H.T. - 12,25 g; Colina - 40 g; Fe - 5.000 mg; Cu - 500 mg; Mn - 1.500 mg; Co - 10 mg; I - 50 mg; Se - 10 mg e Zn - 5.000 mg.

³Extrato não-nitrogenado.

As dietas, isocalóricas (3149,86 kcal ED/kg) e isoprotéicas (27,21% de proteína digestível), foram formuladas com milho, farelo de soja, farinha de peixe e farelo de trigo (Tabela 1). Na dieta teste foi incluído 0,05% de prebiótico, quantidade recomendada pelo fabricante para frangos de corte, e na dieta controle houve inclusão de material inerte (bagaço de cana) na mesma proporção. A proteína e a energia digestível das dietas foram calculadas utilizando-se os coeficientes de digestibilidade encontrados para a tilápia do Nilo por Pezzato et al. (2002).

Depois de misturadas, as rações foram finamente trituradas em moinho de faca com peneira de 2 mm de diâmetro de malha. As dietas foram extrusadas na fábrica de ração da UNESP de Jaboticabal e armazenadas no freezer até o momento da utilização.

4.5. Ensaio de desempenho

Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciedade aparente, de modo a não haverem sobras de ração. Todos os dias a matéria orgânica que se acumulava no fundo dos aquários era sifonada e 75% da água era renovada. Diariamente, antes da primeira alimentação, os peixes eventualmente mortos eram retirados, e as baixas anotadas. As biometrias foram realizadas no início do experimento, aos 28, 56 e 84 dias.

O ganho de peso (GP) foi calculado pela diferença entre os pesos médios da parcela final e inicial.

O consumo total de ração foi determinado pela diferença de peso, entre a ração pesada no início e a o sobra no final do período.

A conversão alimentar aparente (CA) foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$CA = \frac{(\text{Consumo total de ração g})}{(\text{Ganho de peso dos peixes g}) \times (\text{n}^\circ \text{ de peixes na parcela})}$$

A sobrevivência foi calculada dividindo-se o número de peixes vivos no final do experimento pelo número de peixes colocados inicialmente nos aquários.

4.6. Composição corporal

No final do experimento foram amostrados e pesados dois peixes por repetição, que foram sacrificados para retirada imediata do fígado e gordura visceral, que posteriormente foram pesados para os cálculos de índice hepatossomático (IHS) e do índice gorduro-viscerossomático (IGVS), que relacionam respectivamente o peso do fígado e da gordura visceral com o peso do corpo:

$$IHS = \frac{(\text{Peso do fígado g})}{(\text{Peso corporal g})} \times 100$$

$$IGVS = \frac{(\text{Peso da gordura visceral g})}{(\text{Peso corporal g})} \times 100$$

A partir de um fragmento do fígado e do músculo esquelético retirado da porção dorso-caudal foi avaliada a porcentagem de lipídeos nestes tecidos de acordo com a metodologia descrita por Blight e Drier (1957). Também foi coletado um peixe inteiro de cada tratamento para as avaliações de composição corporal segundo metodologia descrita

pela AOAC (1995). A partir dos dados de composição corporal de gordura e nitrogênio obtidos no início e no final do experimento foram calculadas as porcentagens de gordura e nitrogênio no ganho de peso (GGP e NGP), que relacionam a quantidade de extrato etéreo ou nitrogênio, fixados nos pesos dos peixes, e o valor médio de ganho de peso, segundo as equações abaixo:

$$\text{GGP} = \frac{(\% \text{ de gordura final} \times \text{peso final}) - (\% \text{ de gordura inicial} \times \text{peso inicial})}{(\text{peso final g} - \text{peso inicial})} \times 100$$

$$\text{NGP} = \frac{(\% \text{ de nitrogênio final} \times \text{peso final}) - (\% \text{ de nitrogênio inicial} \times \text{peso inicial})}{(\text{peso final g} - \text{peso inicial})} \times 100$$

4.7. Avaliações hematológicas

As avaliações hematológicas foram realizadas a partir de alíquotas de sangue coletadas por punção caudal de um peixe por repetição, utilizando-se seringas contendo EDTA (10%). Para contagem de eritrócitos foi utilizado um contador automático de células sanguíneas (Modelo CC510, da Celm) e a dosagem de hemoglobina foi realizada de acordo com o método de Collier (1944). O hematócrito foi determinado de acordo Goldenfarb et al. (1971). O volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculadas de acordo

com Wintrobe (1934). A contagem diferencial de leucócitos foi realizada a partir de esfregaços corados pancromicamente e as células foram examinadas por microscopia de luz. Em cada esfregaço foram contadas 200 células, estabelecendo-se o percentual de cada componente celular de interesse. A quantificação de leucócitos totais, trombócitos totais e eritroblastos foi realizada indiretamente nas mesmas extensões, a partir da contagem do número de leucócitos, trombócitos e eritroblastos para cada 2000 eritrócitos.

4.8. Avaliações morfométricas

Para avaliação da morfologia intestinal foi colhida a porção média do duodeno de seis peixes por bloco, totalizando nove peixes por tratamento. As amostras foram fixadas em solução de Bouin e após 24 horas lavadas em álcool etílico a 70^oGL e em seguida desidratadas em séries crescentes de álcoois. Após a desidratação, procedeu-se a diafamação em benzol e inclusão em parafina. Foram confeccionadas duas lâminas de cada amostra e os cortes foram corados de acordo com a técnica de coloração hematoxilina de Harris-eosina (Behmer et al., 2003). As lâminas foram fotografadas utilizando-se uma câmera digital acoplada a um microscópio (aumento 10 vezes), e de cada amostra foram tiradas 50 medidas da altura do epitélio de revestimento, altura das vilosidades, profundidade de cripta e número de vilosidades/área (1712,14 μm^2). As medidas morfométricas do duodeno foram realizadas em um sistema analisador de imagens Pró-plus da Cibernética do Brasil.

4.9. Análises estatísticas

A análise estatística dos resultados foi realizada com a utilização do programa estatístico SAS 8.0. Os dados foram submetidos à análise de variância e as diferenças

($P < 0,05$) entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. As taxas percentuais de sobrevivência, IHS, IGVS, lipídeo no fígado, lipídeo no músculo, GGP e NGP sofreram transformação arco seno $\sqrt{\% / 100}$.

5. RESULTADOS

5.1. Parâmetros físico-químicos

Os resultados das avaliações físico-químicas estão apresentados na Tabela 2 e como pode ser observado os valores médios dos parâmetros limnológicos da água dos aquários experimentais não apresentaram variação significativa ($P>0,05$) entre tratamentos.

Tabela 2. Valores médios \pm desvio padrão e coeficiente de variação dos parâmetros físico-químicos da água dos aquários de juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo (T1) ou não prebiótico (T0).

	T0 ¹	T1 ²	CV (%)
Temperatura (°C)	27,55 \pm 0,89	27,44 \pm 0,84	3,11
Alcalinidade (mg/l)	83,4 \pm 3,05	79,6 \pm 4,25	4,45
Amônia (μ /l)	8,87 \pm 1,32	9,18 \pm 1,34	14,73
Oxigênio dissolvido (mg/l)	5,60 \pm 0,97	5,49 \pm 0,94	17,22
pH	7,74 \pm 0,35	7,75 \pm 0,27	4,00

¹Peixes alimentados com a dieta controle; ²Peixes alimentados com a dieta contendo Flavofeed®

5.2. Desempenho produtivo

A média dos pesos e a sobrevivência foram muito semelhantes entre os dois tratamentos no final do experimento e nenhum parâmetro produtivo foi afetado significativamente ($P>0,05$) pela utilização do prebiótico (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios \pm desvio padrão e coeficiente de variação de parâmetros de desempenho de juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo (T1) ou não prebiótico (T0).

	T0 ¹	T1 ²	CV (%)
Peso médio inicial (g)	11,79 \pm 2,15	11,67 \pm 1,99	2,63
Peso médio final (g)	67,62 \pm 8,20	66,57 \pm 14,13	11,56
Ganho de peso (g)	55,83 \pm 7,45	54,89 \pm 12,8	14,28
Consumo total (g)	460,86 \pm 44,76	466,14 \pm 92,99	13,35
Conversão alimentar	1,16 \pm 0,06	1,22 \pm 0,11	5,65
Sobrevivência (%)	94,04 \pm 11,33	92,85 \pm 15,34	17,84

5.3. Composição corporal

Os resultados de composição corporal estão apresentados na tabela 4. A adição de Flavofeed[®] na dieta de juvenis de tilápia diminuiu o índice hepatossomático, entretanto a diferença não foi significativa ($P>0,05$). O índice gorduro-viscerossomático foi significativamente menor ($P<0,05$) nos peixes alimentados com a ração contendo Flavofeed[®] em relação a dieta controle. A porcentagem de gordura no fígado, no músculo e no ganho de peso também diminuiu com a utilização do prebiótico, entretanto a diferença entre as médias não foi significativa ($P>0,05$). A porcentagem de nitrogênio no ganho de peso foi ligeiramente maior na dieta contendo prebiótico, mas também não variou significativamente ($P>0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 4. Valores médios \pm desvio padrão e coeficiente de variação dos dados de índice hepatossomático (IHS) índice gorduro-viscerossomático (IGVS), lipídeo no fígado e no músculo, gordura no ganho de peso (GGP) e nitrogênio no ganho de peso (NGP) de juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo (T1) ou não prebiótico (T0).

	T0 ¹	T1 ²	CV (%)
IHS (%)	1,74 \pm 0,46 ^a	1,62 \pm 0,29 ^a	11,94
IGVS (%)	0,26 \pm 0,16 ^a	0,11 \pm 0,12 ^b	48,04
Lipídeo no fígado (%)	4,14 \pm 0,86 ^a	3,49 \pm 1,06 ^a	14,59
Lipídeo no músculo (%)	1,11 \pm 0,63 ^a	0,90 \pm 0,34 ^a	26,47
GGP (%)	1,09 \pm 0,43 ^a	0,92 \pm 0,35 ^a	21,84
NGP (%)	29,64 \pm 5,36 ^a	30,20 \pm 5,06 ^a	3,14

Médias seguidas da mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

5.4. Parâmetros hematológicos

Os valores de contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), contagem de leucócitos, trombócitos e

eritroblastos foram parecidos entre os tratamentos (Tabela 9) e não foi constatada diferença significativa ($P>0,05$) entre as médias.

Tabela 5. Valores médios \pm desvio padrão e coeficiente de variação dos dados de contagem de eritrócitos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina, hematócrito, hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), leucócitos, trombócitos e eritroblastos do sangue de juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo (T1) ou não prebiótico (T0).

	T0 ¹	T1 ²	CV (%)
Eritrócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	2,12 \pm 0,47	2,27 \pm 0,14	15,87
Hemoglobina (g/dL)	10,51 \pm 2,01	10,78 \pm 0,99	14,92
Hematócrito (%)	24,61 \pm 7,74	27,38 \pm 4,49	24,33
VCM (fL)	114,55 \pm 17,11	120,23 \pm 17,42	14,71
CHCM (%)	49,98 \pm 2,61	47,33 \pm 1,84	4,65
HCM (%)	0,44 \pm 0,07	0,40 \pm 0,05	15,16
Leucócitos ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	5,0 \pm 1,9	4,7 \pm 1,3	35,08
Trombócitos ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	2,2 \pm 1,8	2,1 \pm 2,2	89,64
Eritroblastos ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	4,6 \pm 1,7	4,6 \pm 1,4	52,20

5.5. Parâmetros morfométricos

Os resultados dos parâmetros morfométricos do duodeno estão apresentados na tabela 10. O uso do composto Flavofeed[®] elevou significativamente ($P<0,05$) a altura das vilosidades em relação a dieta controle. O aumento da altura das vilosidades implicou em redução ($P<0,05$) da altura do epitélio de revestimento das vilosidades. Nenhuma alteração significativa ($P>0,05$) na profundidade de cripta e no número de vilosidades por área pôde ser observada.

Tabela 6. Valores médios \pm desvio padrão e coeficiente de variação de parâmetros morfológicos do duodeno de juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo (T1) ou não prebiótico (T0).

	T0 ¹	T1 ²	CV (%)
Altura das vilosidades (μm)	432,26 \pm 59,28 ^b	458,07 \pm 63,63 ^a	13,56
Altura do epitélio de revestimento (μm)	50,00 \pm 10,81 ^a	47,77 \pm 8,79 ^b	20,25
Profundidade de cripta (μm)	42,20 \pm 14,01 ^a	41,59 \pm 14,27 ^a	33,75
Número de vilosidades/ área	14,90 \pm 3,48 ^a	15,00 \pm 2,43 ^a	20,07

Médias seguidas da mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

6. DISCUSSÃO

6.1. Parâmetros físico-químicos

Os valores médios dos parâmetros físico-químicos se mantiveram dentro da faixa ideal preconizada por Kubitza (2000) para o adequado desenvolvimento dos peixes durante todo o período experimental.

6.2. Desempenho produtivo

De acordo com Silva e Nörnberg (2003) a ausência de efeitos dos prebióticos em dietas para não ruminantes pode estar relacionada com o tipo de ingrediente que compõe a ração, com a adaptação da microbiota ao composto adicionado ou ainda com o nível de estresse do animal.

No presente estudo a falta de ação promotora de crescimento do prebiótico pode ser explicada pelas condições de baixo desafio sanitário observadas durante o experimento. Alguns estudos com aves mostram que os prebióticos só afetam o desempenho quando os animais são desafiados. Fairchild et al. (2001) avaliaram a utilização de mananoligossacarídeos em dietas frangos sadios e desafiados com *E. coli*, e constataram resultados de ganho de peso semelhantes aos obtidos com antibióticos nos frangos infectados, nos frangos sadios as médias não diferiram em relação a dieta controle. Dionizio et al. (2002) testaram quatro prebióticos diferentes em dietas para frangos de corte e não encontraram efeito sobre as médias de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. A adição de mananoligossacarídeos também não melhorou o desempenho de frangos de corte em estudo conduzido por Loddi (2003).

Resultados semelhantes em estudos com peixes foram obtidos por Li e Gaitlin III (2003), que conduziram dois experimentos para avaliar a utilização de diferentes níveis de levedura desidratada em dietas para juvenis de “striped bass”. No primeiro experimento a utilização de levedura melhorou o desempenho e sobrevivência, mas no segundo experimento não foi observada diferença entre os tratamentos. De acordo com os autores, os peixes do primeiro experimento não estavam em condições adequadas, o que refletiu em uma mortalidade crônica, possibilitando a expressão dos efeitos do aditivo sobre o organismo. Recentemente, Li e Gaitlin III (2005) estudaram o efeito do uso de levedura parcialmente autolizada e do prebiótico comercial Grobiotic[®]-A em dietas para juvenis do híbrido “striped bass” expostos à infecção crônica por *Mycobacterium marinum* e verificaram que houve tendência de aumento no ganho de peso com o uso dos aditivos, entretanto a diferença entre as médias não foi significativa. Neste mesmo estudo a conversão alimentar foi significativamente melhor para a dieta contendo 2% de levedura em relação aos outros tratamentos e a sobrevivência foi significativamente melhor para a dieta contendo prebiótico.

Por outro lado, em outro estudo também realizado por Li e Gatlin III (2004) a utilização do prebiótico Grobiotic[™] AE durante sete semanas não afetou ganho de peso e a sobrevivência de juvenis de “striped bass”, mas melhorou significativamente a conversão alimentar em relação a dieta basal. Jaramillo e Gaitlin III (2004) verificaram que a adição de β -glucanas em dietas para o “striped bass” provocou uma ligeira porém significativa piora no desempenho e na conversão alimentar em relação a dieta controle. Gaiotto (2005) encontrou melhores resultados de sobrevivência para juvenis de pintado alimentados com dietas contendo levedura desidratada e seus derivados em relação a uma dieta sem aditivo.

A utilização de levedura íntegra e seus derivados, autolizado e parede celular, em dietas para juvenis de tilápia do Nilo já foi objeto de estudo da dissertação de mestrado de Carvalho (2002), que encontrou resultados de crescimento bastante interessantes. Entretanto neste trabalho a levedura foi utilizada como fonte protéica, substituindo 25% da proteína bruta total da dieta.

6.3. Composição corporal

O excesso de gordura abdominal normalmente está associado com a falta de atividade e alimentação desbalanceada. Poucos trabalhos foram encontrados na literatura relacionando o uso de prebióticos com a composição de corporal e deposição de gordura.

Gaiotto (2006) avaliando a utilização de levedura desidratada e seus derivados em dietas para juvenis de pintado, não encontrou alterações no índice hepatossomático e também verificou diminuição significativa nos teores de gordura visceral em relação à dieta controle. Ammerman et al. (1989) constataram que a adição de frutoligossacarídeos em dietas de frangos de corte diminuiu significativamente a porcentagem de gordura abdominal.

Por outro lado, Dionizio et al. (2002) e Loddi (2003) testaram diferentes prebióticos em dietas para frangos e não constataram nenhuma alteração na deposição de gordura abdominal. Li e Gatlin (2003) não encontraram diferença na composição corporal de juvenis de “striped bass” alimentados com dietas contendo diferentes níveis de levedura desidratada.

No presente estudo, a diminuição significativa do teor de gordura abdominal das tilápias alimentadas com prebiótico pode estar relacionada com o aumento da altura das

vilosidades (Tabela 6) e conseqüente aumento da superfície de absorção dos nutrientes no duodeno, em comparação com as tilápias alimentadas sem o prebiótico.

6.4. Parâmetros hematológicos

Os resultados hematológicos obtidos são bastante semelhantes aos eritrogramas levantados na literatura para a tilápia do Nilo por Tavares-Dias e Moraes (2004).

As avaliações hematológicas de peixes alimentados com prebióticos ainda são poucas e os resultados inconsistentes, entretanto alguns estudos mostram que estes aditivos melhoram a resistências dos peixes contra os agentes patogênicos, mesmo quando não houveram alterações hematológicas significativas. Existem evidências de que determinados prebióticos podem atuar diretamente sobre algumas populações de bactérias, ligando-se as fímbrias que as bactérias usam para se fixar, eliminando-as por exclusão competitiva (Spring et al., 2000).

A adição de 0,2% de um produto comercial imunoestimulante contendo β -glucanas em dietas para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) durante uma semana também não afetou significativamente as porcentagens de hematócritos e leucócitos em relação a uma dieta controle, entretanto os peixes alimentados com imunoestimulantes foram mais resistentes a um desafio com bactérias (Siwicki et al., 1994).

Por outro lado, Duncan e Klesius (1996) verificaram que a adição de 0,2% de β -glucanas em dietas para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) diminuiu significativamente os eritrócitos em relação a dieta controle. A porcentagem de linfócitos, trombócitos, macrófagos e neutrófilos foi maior nos peixes que receberam a dieta contendo β -glucanas, entretanto somente os linfócitos diferiram significativamente entre os tratamentos.

6.5. Parâmetros morfométricos

O aumento na altura das vilosidades do duodeno normalmente implica em maior superfície de absorção e melhor aproveitamento dos nutrientes. De acordo com Silva e Nörnberg (2003), os prebióticos podem provocar modificações benéficas nas características anatômicas do trato gastrointestinal, promovendo o aumento na área de absorção da mucosa intestinal.

Macari e Maiorka (2000) estudando frangos de corte com sete dias de idade relataram que o uso de dietas contendo 0,2% de mananoligossacarídeos aumentou significativamente a altura das vilosidades nos três segmentos do intestino delgado. Loddi (2003) constatou aumento significativo da altura das vilosidades e do perímetro de vilo do duodeno de frangos de corte de 21 dias alimentados com dietas contendo mananoligossacarídeos. Estes resultados corroboram com o aumento significativo da altura das vilosidades do duodeno de tilápias tratadas durante 84 dias com prebiótico.

Entretanto, Loddi (2003) verificou que a utilização de mananoligossacarídeos não afetou a morfometria intestinal de frangos com 42 dias. Em outro estudo com frangos de corte a utilização de simbiótico na dieta não afetou significativamente a altura das vilosidades, a largura das vilosidades e a profundidade de cripta no duodeno (Andrade et al., 2004). No presente estudo também não foi observada nenhuma alteração na profundidade de cripta e número de vilosidades/área do duodeno de tilápias alimentadas com dietas contendo prebióticos durante 84 dias, indicando que o fornecimento de prebiótico durante esse período pode ter sido insuficiente para provocar estas alterações morfométricas.

7. CONCLUSÕES

O composto Flavofeed[®] não afetou o desempenho de juvenis de tilápia, entretanto foi constatado efeito sobre o metabolismo de gordura, uma vez que os peixes alimentados com o produto apresentaram menos gordura visceral. Este resultado é positivo, pois o excesso de gordura nas vísceras ainda é um desafio a ser superado no processo produtivo da tilapia. Os resíduos da filetagem podem ser processados e utilizados na alimentação animal, entretanto o peixe gasta muita energia na síntese da gordura, o que pode aumentar os índices de conversão alimentar.

O uso do produto também aumentou a superfície de absorção no duodeno, o que pode implicar em maior eficiência na utilização dos nutrientes. Futuros estudos em condição de desafio sanitário serão necessários para confirmar estes efeitos e verificar possíveis respostas sobre o desempenho e demais parâmetros estudados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, T. S.; MATTY, A. J. The effect of feeding antibiotics on growth and body composition of carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 77, p. 211-220, 1989.

AMMERMAN, E.; QUARLES, C.; TWINING-JR, P. V. Evaluation of frustooligosaccharides on performance and carcass yield of male broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 68, p. 167, 1989.

ANDERSON, D. P.; JENEY, G. Immunoestimulants added to injected *Aeromonas salmonicida* bacterin enhance the defense mechanisms and protection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 34, p. 379-389, 1993.

ANDRADE DE, R.C.; SARTORI, J. R.; GONÇALVEZ, J. C.; MARTINEZ, K. L. A.; COSTA, C.; PEZZATO, A. C.; OLIVEIRA, H. N. Silagem de grãos úmidos de milho e aditivos na alimentação de frangos de corte. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences, Maringá, v. 26, p. 553-559, 2004

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16. Arlington, 1995.

BEHMER, O. H.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. Barueri-SP: Manole, 2003, 256 p.

BLIGHT, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total extraction and purification of lipids. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Toronto, v. 37, p. 911-917, 1957.

BUDIÑO, F. E. L.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; JÚNIOR, J. M. P.; SANTANA, A. E., TUCCI, F. M.; FRAGA, A. L.; SCANDOLERA, A. J.; HUAYNATE, R. A. R. Influência da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre as atividades das enzimas digestivas e parâmetros sanguíneos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 26, p. 529-536, 2004.

CARVALHO, M. **Utilização de levedura íntegra (*Saccharomices cerevisiae*) e seus derivados em dietas para juvenis de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2002. 70 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2002.

COLLIER, H. B. The standartization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, v. 50, p. 550-552, 1944.

DIONIZIO, M. A.; BERTECHINI, A. G.; KATO, R. K.; TEIXEIRA, A. S. Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte – desempenho e rendimento de carcaça. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, Edição Especial, p. 1580-1587, 2002.

DUNCAN, P. L.; KLEUSIUS, P. H. Dietary immunostimulants enhance nonspecific immune responses in channel catfish but not resistance to *Edwardsiella ictaluri*. **Journal of Aquatic Animal Health**, Bethesda, v. 8, p. 241-248, 1996.

FAIRCHILD, A. S.; GRIMES, J. L.; JONES, F. T.; WINELAND, M. J.; EDENS, F. W.; SEFTON, A. E. Effects of hen age, bio-mos® and Flavomycin® on cpoult suscepibility to oral Escherichia coli challenge. **Poultry Science**, Champaign, v. 80, p. 562-571, 2001.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, p. 365-378, 1989.

GAIOTTO, J. R. **Utilização de levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) e seus subprodutos na alimentação de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*)**. 2005. 87. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

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

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, p. 401-412, 1995.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal Clinical Pathology**, Nova York, v. 56, p. 35-39, 1971.

IRIANTO, A.; AUSTIN, B. Probiotics in aquaculture. **Journal of Fish Diseases**, Oxford, v. 25, p. 633-642, 2002.

JARAMILLO JR, F.; GAITLIN III, D. M. Comparison of purified and practical diets supplemented with or without β -glucanas e selenium on resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 35, p. 245-252, 2004.

KOZASA, M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. **Microbiologie Aliments Nutrition**, Zurique, v. 4, p. 121-135, 1986.

KUBTIZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: F. Kubitza, 2000. 289 p.

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

LESLIE, A. J. The ever-increasing role of biotechnology in the poultry industry: lessons from the past and thoughts for the future. **North American University Tour**, 1996, p. 65-85.

LI, P.; GATLIN III, D. M. Evaluation of brewer yeast (*Saccharomices cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture**, Amsterdam, v.1-4, n.219, p.681-92, 2003.

LI, P.; GATLIN III, D. M. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 231, p. 445-456, 2004.

LI, P.; GATLIN III, D. M. Evaluation of the prebiotic Grobiotic®-A and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 248, p. 197-205, 2005.

LODDI, M. M. **Probióticos, Prebióticos e acidificante orgânico em dietas para frangos de corte**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, 2003. 52. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO`2000 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas : FACTA, 2000, v. 2, p. 161-174.

MCPHEARSON, R. M.; DEPAOLA, A.; ZYWNO, S. R.; MOTES JR, M. L.; GUARINO, A. M. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 99, p. 203-211, 1991.

MOORE, P. R.; EVENSON, A.; LUCKEY, T. D.; MSCOY, E.; ELVEJEM, C. A.; HART, E. B. Use of sulfasuxidine, streptathricin and streptomysin in nutritional studies with chick. **Journal of Biology and Chemistry**, Bethesda, v. 165, p. 437-441, 1946.

PARKER, R. B. Probiotics. The other half of the antibiotic story. **Animal Nutrition Health**, Londres, v. 29, p. 4-8, 1974.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; BARROS, M. M.; PINTO, L. G. Q.; FURUYA, W. M.; PEZZATO, A. C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, p.1595-1604, 2002.

RAMIREZ, R. F.; DIXON, B. A. Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from oscars (*Astronotus ocellatus*), angelfish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 227, p. 417-426, 2003.

RAWLES, S. D.; KOCABAS, A.; GAITLIN III, D. M. Dietary supplementation of Terramycin and Romet-30 does not enhance growth of channel catfish but does influence tissue residues. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 28, p. 392-401, 1997.

SAS INSTITUTE. SAS[®] user's guide: statistics, versão 8.0. Cary, 2004.

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

SILVA DA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, p. 983-990, 2003.

SIWICKI, A. K.; ANDERSON, D. P.; RUMSEY, G. L. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 41, p. 125-139, 1994.

SPRING, P.; WENK, C.; DAWSON, A.; NEWMAN, K. E. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, p. 205-211, 2000.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: Villimpres Complexo Gráfico, 2004, 144 p.

TRUST, T. J.; BULL, L. M.; CURRIE, B. R.; BUCKLEY, J. T. Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, Ottawa, v. 36, p. 1174-1179, 1979.

WALDROUP, A. L.; SKINNER, T. J.; HIERHOLZER, R. E.; WALDROUP, P. W. An evaluation of fructooligosaccharide in diets for broiler chickens and effects on salmonellae contamination of carcasses. **Poultry Science**, Champaign, v. 72, p. 643-650, 1993.

WINTROBE, M. M. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. **Folia Haematologica**, Leipzig v. 51, p. 32-49, 1934.