

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Tese será disponibilizado somente a
partir de 15/12/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**Efeito do β -glucano sobre a imunidade da mucosa:
produção de compostos humorais de defesa, expressão de
citocinas pró-inflamatórias no GALT e análise da
composição da microbiota intestinal**

Ingrid Camargo dos Reis

Bióloga

Jaboticabal, São Paulo
2025

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Efeito do β -glucano sobre a imunidade da mucosa:
produção de compostos humorais de defesa, expressão de
citocinas pró-inflamatórias no GALT e análise da
composição da microbiota intestinal**

**Orientador: Prof Dr Hélio José Montassier
Coorientador: Prof^a Dr^a Jaqueline Dalbello Biller**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Doutor em Ciências
Veterinárias.

**Jaboticabal, São Paulo
2025**

R375e

Reis, Ingrid Camargo dos

Efeito do -glucano sobre a imunidade da mucosa, produção de compostos humorais de defesa, expressão de citocinas pró-inflamatórias no GALT e análise da composição da microbiota intestinal / Ingrid Camargo dos Reis. -- Jaboticabal, 2025

145 p. : tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Hédio José Montassier

Coorientadora: Jaqueline Dalbello Biller

1. Imunidade da mucosa. 2. GALT. 3. Microbiota intestinal. 4. Glucano. 5. Imunologia. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Os resultados deste estudo contribuem para o aprimoramento da sanidade na produção de tilápias, ao evidenciar que a suplementação com o β -glucano favorece a resposta imune de mucosa e a modulação da microbiota intestinal. Esses achados indicam potencial aplicação como estratégia de manejo nutricional, com possibilidade de redução do uso de antimicrobianos e promoção de sistemas aquícolas mais sustentáveis.

POTENTIAL IMPACT OF THIS STUDY

The results of this study contribute to improving health management in tilapia production by showing that β -glucan supplementation enhances mucosal immune responses and modulates the intestinal microbiota. These findings indicate its potential application as a nutritional management strategy, with the possibility of reducing antimicrobial use and promoting more sustainable aquaculture systems.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE:

EFEITO DO β -GLUCANO SOBRE A IMUNIDADE DA MUCOSA:
PRODUÇÃO DE COMPOSTOS HUMORAIS DE DEFESA, EXPRESSÃO
DE CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS NO GALT E ANÁLISE DA
COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL

AUTORA: INGRID CAMARGO DOS REIS

ORIENTADOR: HÉLIO JOSÉ MONTASSIER

COORDINADORA: JAQUELINE DALBELLO BILLER

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências Veterinárias,
área: Saúde Única pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 JAQUELINE DALBELLO BILLER
Data: 15/12/2025 16:55:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Assoc. JAQUELINE DALBELLO BILLER (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / FCAT UNESP Dracena

Documento assinado digitalmente
 BRUNNO DA SILVA CEROZI
Data: 17/12/2025 08:18:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. BRUNNO DA SILVA CEROZI (Participação Virtual)
ESALQ USP / Piracicaba/SP

Documento assinado digitalmente
 DANIEL NICODEMO
Data: 15/12/2025 16:41:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. DANIEL NICODEMO (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Câmpus de Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
 RICARDO LUIZ MORO DE SOUSA
Data: 16/12/2025 12:00:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RICARDO LUIZ MORO DE SOUSA (Participação Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária / FZEA USP Pirassununga/SP

Documento assinado digitalmente
 FABIANA PILARSKI
Data: 15/12/2025 21:33:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. FABIANA PILARSKI (Participação Virtual)
CAUNESP / UNESP Jaboticabal

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

INGRID CAMARGO DOS REIS – Nascida em São Paulo, no dia 23 de janeiro de 1995, ingressou no curso de Ciências Biológicas da Faculdade de Engenharia – UNESP – Campus de Ilha Solteira em 2013. Durante sua graduação fez parte de diversos projetos, realizou cursos na área ambiental, participou de vários congressos e desenvolveu uma iniciação científica intitulada “Detecção de fármacos residuais na zona rural de Ilha Solteira – SP” realizada sob orientação do Prof. Drº. Maurício Augusto Leite. Em fevereiro de 2019 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – UNESP, Câmpus de Dracena, e em 2020 submeteu sua dissertação à banca examinadora intitulada como “Suplementação dietética com β -glucano potencializa a expressão de genes no sistema imune em tilápias-do-nilo vacinadas” sob a orientação da Prof Drª Jaqueline Dalbello Biller. Em agosto de 2021 ingressou no curso de Doutorado em Ciências veterinárias na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal e em 2025 submeteu sua tese à banca examinadora.

EPÍGRAFE

“Você ganha força, coragem e confiança através de cada experiência em que você realmente para e encara o medo de frente.”

Eleanor Roosevelt

DEDICATÓRIAS

Dedico esta tese ao meu noivo, pelo amor inabalável e pela paciência em cada etapa desta jornada; à minha filha, que acompanhou o desfecho desta caminhada ainda em meu ventre e que se tornou a maior motivação da minha vida; e aos meus pais, pelo apoio constante, pelo exemplo de força e dedicação que sempre me inspiraram.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que na sua infinita grandeza permitiu a realização dessa pesquisa com sucesso.

À minha filha, que nasceu no final dessa longa jornada e que me motivou todos os dias para finalizar esta pesquisa.

Aos meus pais e minhas irmãs que são meu alicerce, sempre enviando força e incentivo.

Ao meu orientador Profº Drº Hélio José Montassier, pela orientação, paciência e oportunidade que serviram como pilares de sustentação para a conclusão deste trabalho.

À minha coorientadora profª Drª Jaqueline Dalbello Biller, pela forma que acreditou em mim durante toda essa caminhada, ajudando-me a construir esse trabalho de forma satisfatória. Minha eterna gratidão.

Aos integrantes do grupo LIA, que foram de extrema importância para concluir esse trabalho.

As amigas que fiz durante toda minha história na UNESP e que me acompanham até os dias de hoje, Júlia, Mariane, Maria Laura, Ana Luísa, Camila e Thaís foram essenciais nesta caminhada.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2012/22016-3 pelo financiamento do projeto de pesquisa, tornando possível a produção desta tese.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS	15
INTRODUÇÃO	15
REVISÃO DE LITERATURA	17
Tilápia-do-Nilo	17
Sistema imunológico dos peixes	18
Barreiras externas e mecanismos tegumentares	21
Tecido linfóide associado ao intestino - GALT	21
Atividade respiratória dos leucócitos - Burst	24
Atividade da Lisozima sérica	24
Atividade hemolítica do complemento	25
Desempenho zootécnico	26
Imunoestimulante	27
β -glucano	27
16S rRNA next-generation sequencing (NGS)	29
Análise da expressão gênica	31
OBJETIVO GERAL	31
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
REFERÊNCIAS:	33
MATERIAL E MÉTODOS	45
Instalações	45
Animais	46
Delineamento experimental	47
Atividade da lisozima sérica	48
Atividade hemolítica do complemento – Via alternativa	49
Atividade respiratória de leucócitos	50
Extração de DNA, Sequenciamento do Gene 16S rRNA e Processamento de Dados	51
Análise da microbiota intestinal por sequenciamento de segunda geração	52
Análise estatística	53
RESULTADOS	54
Variáveis imunológicas	54
Resultados das análises da microbiota intestinal	57
DISCUSSÃO	60
Variáveis imunológicas	60
Análises da microbiota intestinal	62
CONCLUSÃO:	69
REFERÊNCIAS:	69
CAPÍTULO III. A ADMINISTRAÇÃO DE β-GLUCANO POR 30 DIAS MELHORA	

RESPOSTAS IMUNES DE BIOMARCADORES SÉRICOS E APRIMORA A EXPRESSÃO DE CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS DE JUVENIS DE TILÁPIA, (Oreochromis niloticus)	75
INTRODUÇÃO	75
MATERIAL E MÉTODOS	77
Instalações	77
Desempenho zootécnico	77
Desenho experimental	78
Análise da atividade da Lisozima	79
Atividade hemolítica do complemento	79
Atividade respiratória de leucócitos - Burst	80
Fosfatase alcalina	80
Extração de RNA e Real-time qualitativo (RT-qPCR)	80
ANÁLISE ESTATÍSTICA	82
RESULTADOS	82
Desempenho zootécnico	82
Marcadores séricos	84
Determinação Molecular Da Expressão De Genes Por qPCR-RT Brânquias	88
Determinação Molecular Da Expressão De Genes Por qPCR-RT no intestino	90
DISCUSSÃO	92
Desempenho zootécnico	92
Variáveis Imunológicas	93
Determinação Molecular Da Expressão De Genes Por qPCR-RT	97
CONCLUSÃO:	103
REFERÊNCIAS:	104
CAPÍTULO IV: CONSIDERAÇÕES FINAIS	134
Conclusão	135

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Dracena



Comissão de Ética no Uso de Animais

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do B-glucano sobre a imunidade da mucosa: produção de compostos humorais de defesa no muco de tilápias e análise do transcriptoma de citocinas pró-inflamatórias no GALT das brânquias e intestino" (EFFECT OF B-GLUCAN ON MUCOSAL IMMUNITY: PRODUCTION OF DEFENSE HUMORAL COMPOUNDS IN TILAPIA MUCUS AND ANALYSIS OF THE TRANSCRIPTOME OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES IN GALT OF GILLS AND INTESTINES), registrada com o nº 17/2022 – CEUA, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). **Jaqueline Dalbello Biller** – que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **Pesquisa** – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, em **21/07/2022**.

Dracena, 21 de julho de 2022.

Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - DTA

Rod. Crd. João Ribeiro de Barros, km 651- Bairro das Antas – CEP: 17900-000 – Dracena/SP – Brasil

Tel. (18) 3821-8200 – www.dracena.unesp.br – academico@dracena.unesp.br

Efeito do β -glucano sobre a imunidade da mucosa: produção de compostos humorais de defesa, expressão de citocinas pró-inflamatórias no GALT e análise da composição da microbiota intestinal

RESUMO - O β -glucano é amplamente estudado na nutrição de peixes por suas propriedades imunoestimulantes, sendo reconhecido por aumentar os componentes celulares e humorais inatos de defesa, além de modular a microbiota intestinal. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar os impactos da administração prolongada de β -glucano nas respostas imunológicas e na composição da microbiota intestinal de tilápias juvenis. Para tanto foram desenvolvidos dois experimentos com diferentes períodos de suplementação com β -glucano. Foram avaliados parâmetros de desempenho zootécnico, variáveis imunológicas, como lisozima sérica, atividade hemolítica do complemento e atividade respiratória de leucócitos, além de biomarcadores hematológicos, expressão de genes e a composição da microbiota intestinal. Os resultados demonstraram que a suplementação com β -glucano melhora a resposta imune inata, promovendo o aumento de citocinas pró-inflamatórias e melhorando a produção de enzimas líticas, fortalecendo o sistema imunológico. Foram observados também um efeito positivo do β -glucano sobre a composição da microbiota intestinal, com aumento da diversidade microbiana e alterações em filos importantes, como a redução de *Fusobacteria* e o aumento de *Firmicutes*. No entanto, novas pesquisas são necessárias para aprimorar os protocolos de administração de β -glucano e esclarecer suas ações em diferentes períodos de fornecimento.

Palavras-chaves: β -glucano, imunidade, nutrição, microbiota intestinal.

Effect of β -glucan on Mucosal Immunity: Production of Humoral Defense Compounds, Pro-inflammatory Cytokine Expression in GALT, and Analysis of Intestinal Microbiota Composition

ABSTRACT - β -glucan has been widely studied in fish nutrition for its immunostimulatory properties and is known for enhancing both cellular and humoral components of the innate immune system, as well as modulating the intestinal microbiota. This study aimed to assess the effects of prolonged β -glucan administration on the immune responses and intestinal microbiota composition of juvenile tilapia. To this end, two experiments were conducted with varying periods of β -glucan supplementation. Zootechnical performance parameters and immunological variables, such as serum lysozyme, complement hemolytic activity, and leukocyte respiratory activity, were evaluated, along with hematological biomarkers, gene expression, and the composition of the intestinal microbiota. The results showed that β -glucan supplementation enhances the innate immune response, promoting an increase in pro-inflammatory cytokines and boosting the production of lytic enzymes, thereby strengthening the immune system. A positive effect of β -glucan on the intestinal microbiota composition was also observed, with increased microbial diversity and changes in important phyla, including a reduction in *Fusobacteria* and an increase in Firmicutes. However, further research is needed to optimize β -glucan administration protocols and clarify its effects across different supplementation periods.

keywords: β -glucan, immunity, nutrition, intestinal microbiota.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP – Fosfatase ácida
AMP – Peptídeos antimicrobianos
ANOVA – Análise de Variância
APCs – Células apresentadoras de antígenos
Burst – Atividade respiratória dos leucócitos
cDNA – DNA complementar
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
CFU (UFC) – Unidades formadoras de colônia
CGE – Célula Granulocítica Especial
EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
EGTA – Ácido Etilenoglicol Tetra-acético
FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
GALT – Tecido linfóide associado ao intestino
GIALT – Tecido linfóide associado às brônquias
HPA – Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
HSP70 – Proteína de choque térmico 70
IEC – Células epiteliais intestinais
IFN- γ – Interferon gama
IgA – Imunoglobulina A
IgM – Imunoglobulina M
LEAP-2 – Peptídeo antimicrobiano expresso no fígado 2
IL-1 β – Interleucina 1 beta
IL-6 – Interleucina 6
IL-10 – Interleucina 10
MALT – Tecido linfóide associado às mucosas
MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade
NBT – Nitro Azul de Tetrazólio
NK – Células Natural Killer
NF- κ B – Fator nuclear kappa B
OTU – Operational Taxonomic Unit
PAMPs – Padrões moleculares associados a patógenos
PBS – Tampão fosfato-salino
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
PRRs – Receptores de reconhecimento de padrões
RBC – *Red Blood Cells* (Eritrócitos)
RNA – Ácido Ribonucleico
rRNA (NGS) – Sequenciamento de próxima geração RNA ribossomal 16S
RT – Transcrição reversa
ROS – Espécies Reativas de Oxigênio
SALT – Tecido linfóide associado à pele
SAS – *Statistical Analysis System*
TGF- β – Fator de transformação do crescimento beta

TLRs – Receptores Toll-Like

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

UFC – Unidade Formadora de Colônia

VCM – Volume Corpuscular Médio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cronograma do experimento para visualização dos grupos e tratamentos.....	53
Figura 2. Expressão relativa dos genes no intestino de tilápias suplementadas com β -glucano, por qPCR-RT.....	60
Figura 3. Expressão relativa dos genes nas brânquias em tilápias suplementadas com β -glucano, por qPCR-RT.....	63
Figura 4. Atividade da Lisozima em tilápias suplementadas com β -glucano.....	68
Figura 5. Atividade hemolítica do complemento em tilápias suplementadas com β -glucano.....	69
Figura 6. Atividade respiratória dos leucócitos em tilápias suplementadas com β -glucano.....	69
Figura 7. Atividade bactericida em tilápias suplementadas com β -glucano.....	70
Figura 8. Avaliação da Fosfatase alcalina em tilápias suplementadas com β -glucano.....	70
Figura 9. Avaliação da taxa de mortalidade em tilápias suplementadas com β -glucano.....	71
Figura 10. Lisozima de tilápias alimentadas com β -glucano. Barras com asterisco indicam diferença significativa com seu respectivo controle.....	111
Figura 11. Relação entre o número de leituras versus o número total de OTUs....	114
Figura 12. Análise da diversidade de espécies bacterianas na microbiota intestinal de tilápias alimentadas com β -glucano.....	115
Figura 13. Abundância de táxons bacterianos em nível de filo na microbiota intestinal de tilápia nas diferentes dietas de β -glucano: Controle (sem β -glucano), 30, 60 e 90 dias.....	116
Figura 14. Análise de coordenadas principais da diversidade β , com base na distância UniFrac ponderada. As amostras Controle 30, 60 e 90 dias de dieta β -glucano foram representadas com pontos de cores diferentes.....	117

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

O setor de aquicultura intensiva tem se mantido como uma grande potência na produção de proteína animal, superando outras indústrias devido ao desenvolvimento de alternativas para mitigar impactos ambientais e dar ênfase no bem-estar animal. Desde 2011, o setor cresceu 54%, com projeção de crescer 35% até 2030. Entre 1987 e 2017, a produção brasileira de tilápia cresceu 14% ao ano, saltando de 13 mil para 595 mil toneladas, representando cerca de 50% da produção aquícola nacional e mesmo não sendo uma espécie nativa, ela destaca-se na produção devido suas características de fácil adaptação em diferentes partes do mundo (Barroso et al., 2019; FAO, 2022.; Souza, 2022)

Entretanto, a piscicultura no geral, continua sofrendo com cenários preocupantes com surgimento de velhas e novas doenças, além da resistência antimicrobiana criando um cenário preocupante no setor (Biller-Takahashi e Urbinati, 2014). Isso porque a utilização em excesso de antimicrobianos pode acarretar na proliferação de bactérias resistentes aos antibióticos e aumentar os casos de infecções zoonóticas. A intensificação da produção pode promover perturbações no desenvolvimento, reprodução e sobrevivência, influenciando negativamente nos mecanismos de defesa animal (Aguilar e Silva, 2023; KUBITZA, 2013).

Alternativas como o uso de biomoléculas, buscam aumentar a eficiência e potencializar a rentabilidade da produção de organismos aquáticos (El-Sayed et al., 2024; Radwan et al., 2024). Dessa forma, houve a necessidade de unir áreas de nutrição e saúde com foco no bem-estar, fortalecimento do sistema imunológico e na redução dos impactos negativos no ambiente; e nos peixes, (Tacon et al., 2022; Zaminhan-Hassemer, 2022).

Uma das alternativas mais promissoras para mitigar esses desafios é o uso de imunoestimulantes, como o β -glucano, um polissacarídeo encontrado na parede celular de plantas, fungos e bactérias (Harris et al., 2020; Souza, 2022). Estudos demonstram que o β -glucano tem potencial para aumentar a imunidade inata dos

peixes, promovendo a atividade dos macrófagos e melhorando a resistência às doenças (de Assis Beneti et al., 2023).

Contudo, a dosagem e a forma de administração adequadas para peixe ainda necessitam de um consenso, principalmente devido às variações nas características do β -glucano, como peso molecular, solubilidade e grau de ramificação. Além disso, outros fatores como o órgão estudado, via de administração do β -glucano e a espécie analisada podem influenciar o grau de resposta imune (Miest et al., 2016; Reis et al., 2021; Rodrigues et al., 2020).

Seguindo esse raciocínio, na última década, pesquisas relacionadas à nutrição e imunidade tem sido amplamente explorada, visto que a microbiota desempenha função crucial na digestão de nutrientes e no fortalecimento do sistema imune; e que a suplementação por aditivos dietéticos pode alterar a composição da microbiota, impactando diretamente na saúde e na eficiência produtiva dos peixes. (de Brito et al., 2022; Zeng et al., 2018). Dessa forma, a análise da comunidade bacteriana por sequenciamento de última geração, como 16S rRNA, tem permitido uma caracterização mais detalhada da microbiota intestinal, evidenciando a importância de se compreender a relação entre nutrição e saúde intestinal (Silva, 2020).

Paralelamente, o sistema imunológico das mucosas, como o tecido linfóide associado ao intestino (GALT), tem se mostrado fundamental na proteção dos peixes contra enfermidades. Estudos mostram que a interação do β -glucano e o sistema imunológico das mucosas podem melhorar a imunidade e prevenir infecções (Kakakhel et al., 2023; Lazado and Caipang, 2014). Isso porque a resposta imune é mediada por moléculas como PRRs (receptores de reconhecimento padrão) e citocinas, que têm sua produção ativada pelo reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), sendo responsáveis pela ativação da resposta imune inata e adaptativa, especialmente nos ambientes aquáticos, onde a diversidade microbiana é ampla (Magnadóttir et al., 1999; Rauta et al., 2014).

No entanto, ainda existem lacunas importantes sem respostas, principalmente pela escassez de estudos sobre a ação do β -glucano nas mucosas de tilápias, especialmente na ausência de patógenos. Além disso, a administração oral de imunomoduladores e antibióticos, por exemplo, é captada principalmente no intestino posterior onde ocorre a interação com células de defesa. A maioria dos estudos

disponíveis concentra-se em humanos e vertebrados terrestres, o que ressalta a necessidade de pesquisas mais aprofundadas nas respostas imunes das mucosas de peixes (Lazado e Caipang, 2014; Selvaraj et al., 2005).

Por tanto, o presente estudo tem como objetivo investigar os efeitos da suplementação com β -glucano na imunidade inata, na expressão de genes relacionados à resposta imune, na composição da microbiota intestinal e no desempenho zootécnico de tilápias (*Oreochromis niloticus*), considerando a interação com tecidos mucosos e a modulação das respostas imunes sem a presença de patógenos.

CONCLUSÃO:

A administração prolongada de β -glucano demonstrou um efeito positivo na imunidade inata das tilápias, especialmente em relação à atividade da lisozima e ao

sistema complemento. Peixes alimentados com β -glucano por 30 e 90 dias apresentaram melhoras na resposta imune, sugerindo uma modulação positiva dos mecanismos de defesa. Em relação à microbiota intestinal, o β -glucano favoreceu a diversidade microbiana nos primeiros 30 dias, com uma recuperação parcial aos 90 dias, mostrando que o β -glucano pode melhorar a saúde intestinal e aumentar a eficiência na digestão de nutrientes.

REFERÊNCIAS:

- Abd El-Hack, M.E., El-Saadony, M.T., Shafi, M.E., Qattan, S.Y.A., Batiha, G.E., Khafaga, A.F., Abdel-Moneim, A.-M.E., Alagawany, M., 2020. Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 104, 1835–1850. <https://doi.org/10.1111/jpn.13454>
- Abdelhamid, F.M., Elshopakey, G.E., Aziza, A.E., 2020. Ameliorative effects of dietary *Chlorella vulgaris* and β -glucan against diazinon-induced toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology** 96, 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.009>
- Abdel-Latif, H.M.R., Hendam, B.M., Nofal, M.I., El-Son, M.A.M., 2021. Extrato de folha de Ginkgo biloba melhora o crescimento, histomorfometria intestinal, imunidade, estado antioxidante e modula a transcrição de genes de citocinas em *Oreochromis niloticus* criado em hapa. **Fish & Shellfish Immunology** 117, 339–349. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.06.003>
- Abreu, J.S. de [UNESP, 2007. *Suplementação alimentar de pacu (Piaractus mesopotamicus Holmberg, 1887) com β 1,3 glicano: atividade respiratória de leucócitos, lisozima e estresse por captura*
- Adel, M., Lazado, C.C., Safari, R., Yeganeh, S., Zorriehzahra, M.J., 2017. Aqualase®, a yeast-based in-feed probiotic, modulates intestinal microbiota, immunity and growth of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture Research** 48, 1815–1826. <https://doi.org/10.1111/are.13019>
- Biller-TAKAHASHI, J.D. *Imunomodulação por levamisol na imunidade inata e adquirida de pacu (Piaractus mesopotamicus)*. 2010.
- Biller-Takahashi, J.D., Takahashi, L.S., Marzocchi-Machado, C.M., Zanuzzo, F.S., Sabioni, R.E., Urbinati, E.C., 2012. Hemolytic activity of alternative complement pathway as an indicator of innate immunity in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. 41, 237–241. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000200001>
- Biller-Takahashi, J.D., Urbinati, E.C., 2014. Fish Immunology. The modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. 86, 1484–1506. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201420130159>
- Butt, R.L., Volkoff, H., 2019. Gut Microbiota and Energy Homeostasis in Fish.

Frontiers in Endocrinology 10.

- Chang, C.-S., Huang, S.-L., Chen, S., Chen, S.-N., 2013. Innate immune responses and efficacy of using mushroom beta-glucan mixture (MBG) on orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, aquaculture. **Fish & Shellfish Immunology** 35, 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.04.004>
- Dawood, M.A.O., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., 2015. Interaction effects of dietary supplementation of heat-killed *Lactobacillus plantarum* and β -glucan on growth performance, digestibility and immune response of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. **Fish & Shellfish Immunology**, Special Issue: Probiotics 45, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.01.033>
- de Assis Beneti, S.A., dos Reis, I.C., Fierro-Castro, C., Moromizato, B.S., do Valle Polycarpo, G., Miasaki, C.T., Biller, J.D., 2023. Stress-associated β -glucan administration stimulates the TLR – MYD88 – NFKB1 signaling pathway in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology** 142, 109089. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.109089>
- de Brito, J.M., Urbich, A.V., da Cruz, T.P., Panczevycz, P.A.P., Miranda, J.A.G., Wernick, B., Furuya, V.R.B., Furuya, W.M., 2022. Xilanase e β -glucanase melhoram o desempenho do crescimento, a barreira intestinal e a microbiota da tilápia do Nilo em pré-crescimento, *Oreochromis niloticus*, alimentada com uma dieta baseada em vegetais. **Aquaculture** 561, 738653. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738653>
- El-Boshy, M., El-Ashram, A., Abdelhamid, F., Gadalla, H., 2010. Immunomodulatory effect of dietary *Saccharomyces cerevisiae*, β -glucan and laminaran in mercuric chloride treated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. **Fish & shellfish immunology** 28, 802–8. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.01.017>
- El-Sayed, A.-F.M., Fagnon, M.S., Hamdan, A.M., Chabrilat, T., Araujo, C., Bouriquet, J., Kerros, S., Zeid, S.M.S., 2024. Dietary Effect of a Plant-Based Mixture (Phyto AquaMeric) on Growth Performance, Biochemical Analysis, Intestinal Histology, Gene Expression and Environmental Parameters of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fishes** 9, 358. <https://doi.org/10.3390/fishes9090358>
- FAO, 2020. Summary of the impacts of the COVID-19 pandemic on the fisheries and aquaculture sector - Addendum to the State of World Fisheries and **Aquaculture** 2020. FAO;
- FAO, 2022, n.d. A situação mundial da pesca e da aquicultura em 2022 URL <https://openknowledge.fao.org/items/11a4abd8-4e09-4bef-9c12-900fb4605a02>
- Ferrari, S.C., Wiggers, C.F., Ferrari, S.C., Affonso, A.L.S., Kataoka, A.M., 2024. UM ESTUDO DE CASO EM EDUCAÇÃO AMBIENTAL: TRAÇANDO UM PARALELO ENTRE A LEGISLAÇÃO E AS PRÁTICAS PEDAGÓGICAS NUM COLÉGIO ESTADUAL DO PARANÁ. **Educação Ambiental em Ação XVIII**.
- Franchini, P., Fruciano, C., Frickey, T., Jones, J.C., Meyer, A., 2014. The Gut Microbial Community of Midas Cichlid Fish in Repeatedly Evolved Limnetic-Benthic Species Pairs. **PLOS ONE** 9, e95027. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095027>
- Gonçalves, A.T., Gallardo-Escárate, C., 2017. Microbiome dynamic modulation through functional diets based on pre- and probiotics (mannan-oligosaccharides and *Saccharomyces cerevisiae*) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Applied Microbiology** 122, 1333–1347. <https://doi.org/10.1111/jam.13437>
- Guerreiro, I., Oliva-Teles, A., Enes, P., 2018. Prebiotics as functional ingredients: focus

on Mediterranean fish aquaculture. **Reviews in Aquaculture** 10, 800–832. <https://doi.org/10.1111/raq.12201>

Guzmán-Villanueva, L.T., Tovar-Ramírez, D., Gisbert, E., Cordero, H., Guardiola, F.A., Cuesta, A., Meseguer, J., Ascencio-Valle, F., Esteban, M.A., 2014. Dietary administration of β -1,3/1,6-glucan and probiotic strain *Shewanella putrefaciens*, single or combined, on gilthead seabream growth, immune responses and gene expression. **Fish & Shellfish Immunology** 39, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.04.024>

Harris, S.J., Bray, D.P., Adamek, M., Hulse, D.R., Steinhagen, D., Hoole, D., 2020. Effect of β -1/3,1/6-glucan upon immune responses and bacteria in the gut of healthy common carp (*Cyprinus carpio*). **Journal of Fish Biology** 96, 444–455. <https://doi.org/10.1111/jfb.14222>

Ishikawa, N. M., Ranzani-Paiva, M. J. T., & Lombardi, J. V. (2008). Metodologia para quantificação de leucócitos totais em peixe *Oreochromis Niloticus*. **Archives of Veterinary Science**, 54-63.

Jami, M.J., Abedian Kenari, A., Paknejad, H., Mohseni, M., 2019. Effects of dietary β -glucan, mannan oligosaccharide, *Lactobacillus plantarum* and their combinations on growth performance, immunity and immune related gene expression of Caspian trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). **Fish & Shellfish Immunology** 91, 202–208. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.024>

Kakakhel, M.A., Narwal, N., Kataria, N., Johari, S.A., Ud Din, S.Z., Jiang, Z., Khoo, K.S., Xiaotao, S., 2023. Deciphering the dysbiosis caused in the fish microbiota by emerging contaminants and its mitigation strategies- A review. **Environmental Research** 117002. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117002>

Khieokhajonkhet, A., Suwannalers, P., Aeksiri, N., Kannika, K., Kaneko, G., Ratanasut, K., Tatsapong, P., Inyawilert, W., Phromkunthong, W., 2024. Effects of dietary *Hericium erinaceus* extract on growth, nutrient utilization, hematology, expression of genes related immunity response, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Physiol Biochem**. <https://doi.org/10.1007/s10695-024-01399-2>

Lyons et al, 2016. Efeitos da suplementação de microalgas na dieta de baixo nível no microbioma intestinal distal da truta arco-íris cultivada *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) - Lyons - 2017 - **Pesquisa em Aquicultura** - URL <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/are.13080>.

Kim, S., Covington, A., Pamer, E.G., 2017. The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. **Immunological Reviews** 279, 90–105. <https://doi.org/10.1111/imr.12563>

KORD, Mohamed Ibrahim; SROUR, Tarek Mohamed; OMAR, Eglal Ali; FARAG, Ahmed Awany; NOUR, Abdel Aziz Moussa; KHALIL, Hala Saber.
The immunostimulatory effects of commercial feed additives on growth performance, non-specific immune response, antioxidants assay, and intestinal morphometry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Frontiers in Physiology**, v. 12, 2021.DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.627499>

Machuca, C., Méndez-Martínez, Y., Reyes-Becerril, M., & Angulo, C. (2022). β -glucanos de levedura como imunomoduladores de peixes: uma revisão. **Animais**, 12 (16), 2154.

Mayta-Apaza, A.C., García-Cano, I., Dabrowski, K., Jiménez-Flores, R., 2021. Bacterial Diversity Analysis and Evaluation Proteins Hydrolysis during the Acid Whey and Fish Waste Fermentation. **Microorganisms** 9, 100. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010100>

- Mente, E., Nikouli, E., Antonopoulou, E., Martin, S.A.M., Kormas, K.A., 2018. Core versus diet-associated and postprandial bacterial communities of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) midgut and faeces. **Biology Open** 7, bio034397. <https://doi.org/10.1242/bio.034397>
- Miest, J.J., Arndt, C., Adamek, M., Steinhagen, D., Reusch, T.B.H., 2016. Dietary β -glucan (MacroGard®) enhances survival of first feeding turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae by altering immunity, metabolism and microbiota. **Fish & Shellfish Immunology** 48, 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.11.013>
- Misra, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C., Pattnaik, P., 2006. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. **Aquaculture** 255, 82–94. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.12.009>
- Ni, J., Yan, Q., Yu, Y., Zhang, T., 2014. Factors influencing the grass carp gut microbiome and its effect on metabolism. **FEMS Microbiology Ecology** 87, 704–714. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12256>
- Parata, L., Nielsen, S., Xing, X., Thomas, T., Egan, S., Vergés, A., 2020. Age, gut location and diet impact the gut microbiome of a tropical herbivorous surgeonfish. **FEMS Microbiology Ecology** 96, fiz179. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz179>
- Parata, L., Sammut, J., Egan, S., 2021. Opportunities for microbiome research to enhance farmed freshwater fish quality and production. <https://doi.org/10.1111/raq.12556>
- Radwan, M., Manaa, E.A., El-feky, M.M.M., Mohammadein, A., Al Malki, J.S., Badawy, L.A., Abbas, M.M.M., 2024. Elucidating the effect of dietary neem (*Azadirachta indica*) on growth performance, haemato-biochemical, immunological response, and anti-pathogenic capacity of Nile tilapia juveniles. **Vet Res Commun.** <https://doi.org/10.1007/s11259-024-10497-8>
- Reis, I.C. dos, Fierro-Castro, C., Gonçalves, G.S., Moromizato, B.S., Tort, L., Biller, J.D., 2021. β -glucan mimics tissue damage signaling and generates a trade-off between head kidney and spleen to activate acquired immunity in vaccinated tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology** 117, 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.08.003>
- Rodrigues, M.V., Zanuzzo, F.S., Koch, J.F.A., de Oliveira, C.A.F., Sima, P., Vetvicka, V., 2020. Development of Fish Immunity and the Role of β -Glucan in Immune Responses. **Molecules** 25, 5378. <https://doi.org/10.3390/molecules25225378>
- Sá, L. S. D. (2024). *Desempenho zootécnico e modulação do estado de saúde de juvenis de tilápia-do-Nilo suplementados com uma mistura funcional de imunomoduladores contendo β -glucanos, nucleotídeos, ácido ascórbico e alfa-tocoferol.*
- Sharifuzzaman, S.M., Rahman, H., Austin, D.A., Austin, B., 2018. Properties of Probiotics Kocuria SM1 and Rhodococcus SM2 Isolated from Fish Guts. **Probiotics & Antimicro.** Prot. 10, 534–542. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9290-x>
- Sheng, Y., Ren, H., Limbu, S.M., Sun, Y., Qiao, F., Zhai, W., Du, Z.-Y., Zhang, M., 2018. The Presence or Absence of Intestinal Microbiota Affects Lipid Deposition and Related Genes Expression in Zebrafish (*Danio rerio*). **Frontiers in Microbiology** 9.
- Silva, B.R., 2020. *Comparação entre o microbioma intestinal de peixes sadios e peixes infectados experimentalmente com Streptococcus agalactiae.*
- Smolelis, A.N., Hartsell, S.E., 1949. THE DETERMINATION OF LYSOZYME. **J Bacteriol** 58, 731–736. <https://doi.org/10.1128/jb.58.6.731-736.1949>

Souza, F.P. de, Lima, E.C.S. de, Urrea-Rojas, A.M., Suphoronski, S.A., Facimoto, C.T., Júnior, J. da S.B., Oliveira, T.E.S. de, Pereira, U. de P., Santis, G.W.D., Oliveira, C.A.L. de, Lopera-Barrero, N.M., 2020. Effects of dietary supplementation with a microalga (*Schizochytrium* sp.) on the hemato-immunological, and intestinal histological parameters and gut microbiota of Nile tilapia in net cages. **PLOS ONE** 15, e0226977. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226977>

Tacon, A.G.J., Metian, M., McNevin, A.A., 2022. Future Feeds: Suggested Guidelines for Sustainable Development. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture** 30, 135–142. <https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1860474>

Telli, G.S., *n.d.* *Bacillus subtilis e Bacillus licheniformis na alimentação de tilápia-donilo, Oreochromis niloticus: desempenho zootécnico, sanidade e modulação da microbiota intestinal.*

Wang, A.R., Ran, C., Ringø, E., Zhou, Z.G., 2018. Progress in fish gastrointestinal microbiota research. **Reviews in Aquaculture** 10, 626–640. <https://doi.org/10.1111/raq.12191>

Wang, X., Luo, H., Wang, D., Zheng, Y., Zhu, W., Zhang, W., Chen, Z., Chen, X., Shao, J., 2023. Partial Substitution of Fish Meal with Soy Protein Concentrate on Growth, Liver Health, Intestinal Morphology, and Microbiota in Juvenile Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*). **Aquaculture Nutrition** 2023, e3706709. <https://doi.org/10.1155/2023/3706709>

Wang, Y., Huang, J.-M., Zhou, Y.-L., Almeida, A., Finn, R.D., Danchin, A., He, L.-S., 2020. Phylogenomics of expanding uncultured environmental Tenericutes provides insights into their pathogenicity and evolutionary relationship with Bacilli. **BMC Genomics** 21, 408. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06807-4>

Won, K. M.; Kim, S. M.; Park, S. I. The effects of b-1, 3/1,6-linked glucan in the diet on immune responses of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* by oral administration. **Journal of Fish Pathology**, v. 17, p. 29–38, 2004. <https://koreascience.kr/article/JAKO200410103479356.pdf>

Whiteside, S.A., Razvi, H., Dave, S., Reid, G., Burton, J.P., 2015. The microbiome of the urinary tract—a role beyond infection. **Nature Review Urol** 12, 81–90. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2014.361>

Wrobel, A., Leo, J.C., Linke, D., 2019. Overcoming Fish Defences: The Virulence Factors of *Yersinia ruckeri*. **Genes** 10, 700. <https://doi.org/10.3390/genes10090700>

Yang, T.-T., Liu, Y., Tan, S., Wang, W.-X., Wang, X., 2021. The role of intestinal microbiota of the marine fish (*Acanthopagrus latus*) in mercury biotransformation. **Environmental Pollution** 277, 116768. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116768>

Zaminhan-Hassemer, 2022. Adding an essential oil blend to the diet of juvenile Nile tilapia improves growth and alters the gut microbiota. **Aquaculture** 560, 738581. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738581>

Zeng, L., Wang, Y.-H., Ai, C.-X., Zhang, J.-S., 2018. Differential effects of β -glucan on oxidative stress, inflammation and copper transport in two intestinal regions of large yellow croaker *Larimichthys crocea* under acute copper stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 165, 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.098>

Zhang, M., Sun, Y., Liu, Y., Qiao, F., Chen, L., Liu, W.-T., Du, Z., Li, E., 2016. Response of gut microbiota to salinity change in two euryhaline aquatic animals with reverse salinity preference. **Aquaculture** 454, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.014>

Zhang, Z., Li, D., Refaey, M.M., Xu, W., Tang, R., Li, L., 2018. Host Age Affects the

Development of Southern Catfish Gut Bacterial Community Divergent From That in the Food and Rearing Water. **Frontiers in Microbiology** 9.