

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 26/04/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Parâmetros imunológicos e fisiológicos de
tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)
alimentadas com dietas suplementadas com
Aquate Fish FT TM**

Carolina Vasconcelos Tavares de Farias

Zootecnista

Jaboticabal, São Paulo

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Parâmetros imunológicos e fisiológicos de
tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)
alimentadas com dietas suplementadas com
Aquate Fish FT TM**

Carolina Vasconcelos Tavares de Farias

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi

Tese de apresentada ao Programa de
Pós graduação em Aquicultura do
Centro de Aquicultura da UNESP –
CAUNESP, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor.

Jaboticabal, São Paulo

2021

F224p

Farias, Carolina Vasconcelos Tavares de
Parâmetros imunológicos e fisiológicos de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* alimentadas com dietas suplementadas com Aquate Fish FT™ /
Carolina Vasconcelos Tavares de Farias. -- Jaboticabal, 2021
100 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2021

Orientadora: Leonardo Susumu Takahashi

Banca examinadora: Cristiële da Silva Ribeiro, João Batista
Kochenborger Fernandes, Leonardo Tachibana, Rogério Salvador
Bibliografia

1. Peixe. 2. Fisiologia. 3. Minerais na nutrição. 4. Imunologia. I. Título.
II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 636.3.043:591.1

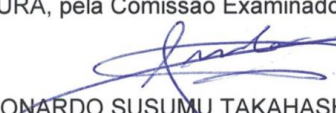
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Parâmetros imunológicos e fisiológicos de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas suplementadas com Aquate Fish FT™

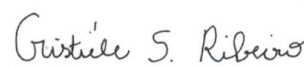
AUTORA: CAROLINA VASCONCELOS TAVARES DE FARIAS

ORIENTADOR: LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em
AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena –
UNESP



Profa. Dra. CRISTIÉLE DA SILVA RIBEIRO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia e Zootecnia / UNESP - Câmpus de Ilha Solteira



Prof. Dr. ROGÉRIO SALVADOR (Participação Virtual)
Curso de Medicina Veterinária / Universidade Estadual do Norte do Paraná, UENP, Bandeirantes-
PR



Prof. Dr. LEONARDO TACHIBANA (Participação Virtual)
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Peixes Ornamentais / Instituto de Pesca, IP, São Paulo-
SP



Prof. Dr. JOÃO BATISTA KOCHENBERGER FERNANDES (Participação Virtual)
Laboratório de Peixes Ornamentais / Centro de Aquicultura - CAUNESP

Jaboticabal, 26 de abril de 2021

*“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre
os ombros de gigantes”*

Issac Newton

DEDICATÓRIA

“A minha família e amigos, pelo amor, compreensão e apoio”.

“Ao meu namorado, pela parceria nas horas mais difíceis”.

“Ao meu orientador pela paciência e amizade”.

“A Alltech e equipe, pela oportunidade de aprender e compartilhar”

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade da vida, e de ter dificuldades que me ensinam e ser uma pessoa e profissional melhor.

A minha mãe que me apoiou e incentivou a realizar este sonho, e que em todos os momentos estava do meu lado me mostrando que tudo na vida tem seu lado bom e que a evolução, mesmo que pareça ruim, é necessária.

Ao meu filho Humberto, que tive que ver suas primeiras palavras e aprendizados de longe, mas que sempre tinha um lindo sorriso a cada final de semana que voltava para vê-lo.

Ao meu namorado José Mauro que com sua calma soube superar nossos problemas e que até quando meu humor faltava estava ao meu lado. Aos amigos Michele Carvalho, Mateus Gardino, Amanda Miyuki, Marcio Kishimoto, Luana Camargo, Gabriela Carli, Thaise Mota, Thayse Michielin, Jeisson Celtibero Allan Emilio e Bernardo Ramos, que em pouco tempo de convivência tornaram meus dias mais leves!

Ao meu orientador, professor Dr. Leonardo Susumu Takahashi, pela compreensão e ajuda, por acreditar que esse projeto seria possível e confiar no meu trabalho e não desistirem de me apoiar, com quem aprendi com as broncas, conselhos e risadas. A todos os funcionários do Caunesp (em especial ao Luis), pelo dedicado trabalho que torna o Campus referência nacional.

A Alltech do Brasil pela oportunidade de um emprego onde posso aprender com profissionais de renome e experiência no mercado.

Ao UNIVERSO meu muito obrigada!

APOIO FINANCEIRO



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Efeitos imunológicos em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com blande de aditivos e desafiadas com LPS** protocolo nº 3556/20, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 23 de junho de 2020.

Vigência do Projeto	20/08/2020 a 20/10/2021
Espécie / Linhagem	Tilápia do Nilo (<i>Oreochromus Niloticus</i>)
Nº de animais	160
Peso / Idade	120g / 6 meses
Sexo	Indeterminado
Origem	Centro de Aquicultura da Unesp – CAUNESP (CNPJ: 48.031.918/0001-24)

Jaboticabal, 23 de junho de 2020.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Efeitos imunológicos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com blend de aditivos

A adição de prebióticos e minerais orgânicos auxiliam na manutenção da saúde e desempenho de animais de produção. Objetivou-se neste trabalho avaliar a combinação entre microminerais e mananoligossacarídeos na resposta imunológica e o desempenho produtivo de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada com dietas contendo diferentes níveis 0; 0,4, 0,8 e 1,2% de Aquate Fish FT, blend comercial composto por cobre, selênio, zinco e mananoligossacarídeos. O experimento foi dividido em dois períodos, aos 30 dias experimentais foram avaliados parâmetros imunológicos e desempenho produtivo, e aos 60 dias os animais foram desafiados com lipopolissacarídeos (LPS), simulando um desafio com bactérias, e então comparado os parâmetros imunológicos antes e após a inoculação do LPS. Adequada fonte e suplementação de microminerais e mananoligossacarídeos é necessária para modular parâmetros imunológicos no intuito de que os animais consigam manter os índices zootécnicos frente a desafios do campo. Em ambos os experimentos (capítulo 2 e capítulo 3) foi possível observar uma resposta fisiológica com a inclusão Aquate Fish FT na dieta dos peixes, demonstrando que o aditivo auxiliou na manutenção da saúde dos animais que receberam a suplementação.

Palavras-Chave: peixe, fisiologia, minerais na nutrição, imunologia.

Immunological effects on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with blend additives.

The addition of prebiotics and organic minerals help in maintaining the health and performance of production animals. The objective of this work is to evaluate the combination of microminerals and mananoligosaccharides in the immunological response and the productive performance of Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing different levels 0; 0.4, 0.8 and 1.2% aquate fish ft, commercial blend composed of copper, selenium, zinc and mananoligosaccharides. The experiment was divided into two periods, at 30 experimental days, in which immunological parameters and productive performance were evaluated, and at 60 days, in which the animals were challenged with lipopolysaccharides (LPS), simulating a challenge with bacteria, and then compared the immunological parameters before and after inoculation of the LPS. Adequate source and supplementation of microminerals and mananoligosaccharides is necessary to modulate immunological parameters in order for animals to be able to maintain zootechnical indices in the face of field challenges. In both experiments (chapter 2 and chapter 3) it was possible to observe a physiological response with the inclusion of Aquate Fish FT in the fish diet, demonstrating that the additive aided in the maintenance of the health of the animals that received the supplementation.

Keywords: fish, physiology, minerals in nutrition, immunology.

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

Tabela 1 - Metaloenzimas Essenciais para manutenção da saúde e desempenho de Animais Aquáticos.....	20
---	----

CAPITULO II

Tabela 1 - Composição do Aquate Fish FT.	48
Tabela 2 - Formulação das dietas experimentais.	49
Tabela 3 - Sequência de primers utilizados para análise de expressão gênica em rim de tilápias do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT durante 30 dias.....	56
Tabela 4 - Médias dos parâmetros zootécnicos: peso final (PF), ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE), consumo, conversão alimentar (CA), taxa de eficiência proteica (TEP) e índice hepatossomático (IHS) de tilápias do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT durante 30 dias	57
Tabela 5 - Médias dos parâmetros imunológicos de tilápias do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT durante 30 dias.....	58
Tabela 6 - Médias dos parâmetros hematológicos: hematócrito, eritrócitos, leucócitos, trombócitos, eritoblastos, linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos, CGE e basófilos de tilápias do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT durante 30 dias.	59
Tabela 7 - Médias das atividades hepáticas das enzimas do sistema antioxidante: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) de tilápias do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT durante 30 dias.....	60

CAPITULO III

Tabela 1 - Composição do Aquate Fish FT.	80
Tabela 2 - Formulação das Dietas Experimentais.	81
Tabela 3 - Médias da atividade respiratória de leucócitos (burst), concentração de lisozima sérica e concentração de globulina de tilápias do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT durante 60 dias, antes e depois do desafio com LPS.....	88
Tabela 4 - Médias de hematócrito e hemoglobina de tilápia do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT durante 60 dias antes e depois do desafio com LPS.....	88
Tabela 5 - Médias da atividade hepática da catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase de tilápia do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT durante 60 dias, antes e depois do desafio com LPS.	89

ANEXO

Tabela 1 - Médias de peso final (PF), ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE), consumo, conversão alimentar (CA), taxa e eficiência proteica (TEP) e índice hepatossomático (IHS) de tilápias do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT por 60 dias.	100
---	-----

LISTA E FIGURAS

CAPITULO I

Figura 1 - Esquema de ação das enzimas do controle ao estresse oxidativo
Superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e Glutathione peroxidase (GPX).....32

CAPITULO II

Figura 1 - Efeito na expressão relativa do RNAm dos genes *sod 2*, *cat 1* e *gpx* de
tilápias do Nilo alimentadas com Aquate Fish FT durante 30 dias. 61

Figura 2 - Efeito na expressão gênica dos genes *IL1 β* e *IL8*.61

CAPITULO III

Figura 1 - Hematócrito de juvenis da tilápia do Nilo alimentadas por 60 dias com
diferentes níveis de Aquate Fish FT antes e depois do desafio com LPS.89

SUMÁRIO

CAPITULO I

1.1 INTRODUÇÃO	17
1.2 MINERAIS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES	19
1.2.1 Microminerais	19
1.3 MANANOLIGOSSACARÍDEOS	24
1.4 RESPOSTA IMUNITÁRIA EM PEIXES	25
1.5 RESPOSTAS DO SISTEMA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICO	30
1.7 REFERÊNCIAS	33

CAPITULO II

2.1 INTRODUÇÃO	46
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	47
2.2.1 Aquisição dos Peixes	47
2.2.2 Instalações e Qualidade de Água	47
2.2.3 Dietas Experimentais e Protocolo Experimental	48
2.2.4 Desempenho Zootécnico	50
2.2.5 Parâmetros Imunológicos	51
2.2.5.1 Atividade Respiratória de Leucócitos	51
2.2.5.2 Concentração de Globulinas Totais	51
2.2.5.3 Parâmetros Hematológicos	52
2.2.6 Enzimas do Sistema Antioxidante	53
2.2.7 Expressão gênica - PCR em Tempo Real (qPCR)	54
2.2.8 Análise Estatística	56
2.3 RESULTADOS	57
2.3.1 Desempenho Zootécnico	57
2.3.2 Parâmetros Imunológicos	57
2.4 DISCUSSÃO	62
2.5 CONCLUSÃO	67
2.6 REFERÊNCIAS	67

CAPITULO III

3.1 INTRODUÇÃO	77
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	79
3.2.1 Instalações e Qualidade de Água.....	79
3.2.2 Dietas Experimentais e Protocolo Experimental	80
3.2.3 Desafio com Lipopolissacarídeos (LPS).....	82
3.2.4 Desempenho Zootécnico	82
3.2.5 Parâmetros Imunológicos Avaliados	83
3.2.5.1 Atividade de Lisozima.....	83
3.2.5.2 Atividade Respiratória de Leucócitos	83
3.2.5.3 Concentração Sérica de Globulinas	84
3.2.5.4 Parâmetros Hematológicos	84
3.2.6 Enzimas do Sistema Antioxidante	84
3.2.7 Análise Estatística.....	86
3.3 RESULTADOS	86
3.3.1 Parâmetros Imunológicos	86
3.4 DISCUSSÃO	90
3.5 CONCLUSÃO.....	94
3.6 REFERÊNCIAS.....	94
3.7 ANEXO 01	100

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade multidisciplinar, que se refere ao cultivo de diversos organismos aquáticos, incluindo as plantas aquáticas, moluscos, crustáceos e peixes. A piscicultura é um dos segmentos da aquicultura praticada em várias culturas distintas e manejada há alguns séculos. Existem evidências deste relato em documentos e manuscritos chineses de séculos remotos (OLIVEIRA, 2009). Desde então, o desenvolvimento tecnológico nas áreas de nutrição, manejo e genética vem tornando a atividade cada vez mais competitiva.

A piscicultura brasileira cresceu 5,93% em 2020, terminando o ano com a produção de 802.930 toneladas de peixes cultivados, dentre as espécies se destaca o cultivo de tilápias, que representa 60,6% da produção nacional (PEIXE BR, 2021). A intensificação dos cultivos e a concentração dos empreendimentos em parques aquícolas, ou polos de produção, traz benefícios com o aumento na escala de produção, otimizando o uso de infraestruturas, serviços, e a possibilidade de alcançar uma melhor organização e representação do setor produtivo. No entanto, essa concentração impõe desafios, especialmente no que diz respeito à biossegurança dos cultivos (SANTOS, 2009a).

Com isso, imunomoduladores dietéticos surgem como uma alternativa viável para prevenção de doenças, já que o estado nutricional é considerado um fator importante e que determina a capacidade do peixe em resistir a doenças. Neste contexto, tem se intensificado pesquisas objetivando maior entendimento sobre a nutrição e o fortalecimento da resposta imune dos peixes a fim de definir a função dos alimentos que influenciem na resistência a doenças (LALL, 2002).

Aditivos alimentares podem estimular o sistema imunológico dos peixes, por isso as dietas devem ser formuladas não somente com critérios produtivos, mas também considerando a capacidade desses aditivos em promover a higidez destes animais (KIRON, 2012). Estes aditivos nutricionais são utilizados para melhorar a saúde intestinal, reduzir problemas com enfermidades e melhorar o aproveitamento dos alimentos, se tornando assim uma ferramenta importante para se manter a lucratividade do cultivo (RIDHA; AZAD, 2012). Entre os aditivos mais estudados, estão os probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos, enzimas exógenas, extratos vegetais e fitoterápicos. Os prováveis substitutos de

promotores de crescimento devem manter a ação benéfica dos antibióticos e eliminar as indesejáveis, como resistência bacteriana (LODDI et al., 2000).

Um aditivo comumente utilizado na nutrição animal, como ingredientes não digeríveis por enzimas digestíveis normais, que atuam estimulando seletivamente a sobrevivência e atividade de bactérias do intestino e melhorando a saúde do hospedeiro são os prebióticos, eles 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 imuno estimulatórias e interagir com o sistema imune em vários níveis (SILVA; NÖRNBERG, 2003). Os prébióticos mais importantes são os oligossacarídeos: frutoligossacarídeos, glucoligossacarídeos e mananoligossacarídeos (IMMERSEEL et al., 2002).

O uso de alguns microminerais também apresentam relação com maior grau de proteção em peixes, sua adição como ferramenta imunomoduladora pode ser utilizada de modo profilático durante períodos críticos do ciclo produtivo, como por exemplo a larvicultura, manejos de classificação, transporte ou vacinação, auxiliando para uma saúde preventiva por meios nutricionais, já que nestes momentos os animais se tornam mais susceptíveis a agentes infecciosos, (JENEY; ANDERSON, 1993).

Toda cadeia produtiva ganha com o uso de mananoligossacarídeos e diferenciada suplementação de microminerais na dieta de peixes, sendo pela promoção na melhoria da saúde, pois algumas espécies importantes, como a tilápia, filtram microalgas e materiais orgânicos particulados no ambiente, favorecendo a entrada de microrganismos no trato digestivo, aumentando as chances de colonização do intestino por bactérias patogênicas (KIRON, 2012). Ou pela menor possibilidade de deficiência ou intoxicação de minerais, pelo fato de os minerais orgânicos serem mais biodisponível (APINES-AMAR et al., 2004), sendo possível colocar menores quantidades quando comparado aos inorgânicos (ROSTAGNO et al., 2017), não interagirem com outros compostos da dieta (sendo mais absorvidos) e não competirem por sítios de absorção (SIGNOR, 2006).

1.7 REFERÊNCIAS

ABDEL-TAWWAB, M.; MOUSA, M. A. A.; ABBASS, F. E. Growth performance and physiological response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity. **Aquaculture**, Amsterdam; v. 272, p. 335-345, 2007.

ABDEL-TAWWAB, M.; WAFEEK, M. Response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) to environmental cadmium toxicity during organic selenium supplementation; **Aquaculture**, v. 42, p.106-114,2010.

ALMEIDA, E. A.; BAINY, A. C. D.; DAFRE, A. L.; GOMES, D. O.; MEDEIROS, M. G. H.; MASCIO, P. Oxidative stress in digestive gland and gill of the brown mussel. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 318, p. 21-30, 2005.

ANDREWS, S. R.; SAHU, N. P.; PAL, A. K.; KUMAR, S. Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. **Aquaculture research**, v. 41, n. 1, p. 61-69, 2009.

APINES, M. J. S.; SATOH, S.; KIRON, V.; WATANABE, T.; FUJITA, S. Bioavailability and tissue distribution of amino acid-chelated trace elements in

rainbow trout *Oncorhynchus* fish. **The Journal Of Experimental Biology**, v. 206, p. 11-23, 2003.

APINES-AMAR, M. J. S., SATOH, S., CAIPANG, C. M. A., KIRON, V., WATANABE, T., AOKI, T. Amino acid-chelated: a better source of Zn, Mn and Cu for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**. Amsterdam, v. 240, p. 345-358, 2004.

BAYNE, C. J. Co Evolution of innate and adaptative immunity. **Integrative and Comparative Biology**, n. 43, p. 291-299, 2003.

BUENTELLO, J. A.; GOFF, J.B.; GATTLIN III, D. M. Dietary zinc requirement of hybrid striped bass, *Morone chrysops* x *Morone saxatilis*, and Bioavailability of two chemical different zinc compounds. **Journal of World Aquaculture Society**, v. 40, n. 5, p. 687-693, 2009.

BURY, N. R.; WALKER, P.A.; GLOVER, C. N. Nutritive metal uptake by teleost mykiss. **Fisheries Science**, v. 69, p. 722-730, 2003.

CALICH, V.L.G.; VAZ, C.A.; BURGER, E. Immunity to *Paracoccidioides brasiliensis* infection. **Research Immunology**, v. 149, p. 407-417, 1998.

CLAUSS, T. M.; DOVE, A. D. N.; ARNOLD, J.E. Hematologic disorders of fish. **Veterinary Clinics Exotics Animal Practice**, v.11, p. 445-462, 2008.

CLOSE, W. H. The role of trace mineral proteinates in pig nutrition. In: Alltech's Annual Symposium, 14., 1998, **Nottingham**. Anais. Nottingham: Alltech, p. 376-469, 1998.

COSTA, G. M. Estudo histomorfológico e análise dos perfis celulares do rim cefálico, fígado, baço e timo do *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887, Teleosteo, Characidae), pacu. Mestrado Universidade de São Paulo, 2007.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, v. 10, n. 10, p. 87-98, 1997.

DO CARMO E SÁ, M. V.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; PADILHA, P. M. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juvenile diets. **Aquaculture**, v. 238, p. 385-401, 2004.

DALMO, R.; INGEBRIGTEN, K.; BOGWALD, J. Non specific defence mechanisms in Fish, with particular reference to the reticuloendothelial system. **Journal Fish Diseases**. n. 20, p.242-273, 1997.

DEMERS, N. E.; BAYNE, C. J. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 21, n. 3, p. 63-73, 1997.

E-SCIENCE CENTRAL, disponível em: <<https://www.e-sciencecentral.org/articles/SC000029005>>._Acesso em:11/07/2020.

FERNANDEZ, A. B.; DE BLAS, I.; RUIZ, I. El sistema inmune de los teleósteos (I): Células y órganos. **Revista AquaTic**, v. 16, 2002.

FERRARI, J. E. C.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; GONÇALVES, G. S.; HISANO, H.; KLEEMAN, G.K. Níveis de cobre para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 26, n. 4, p. 429-436, 2004.

FOUNTOLAKI, E.; MORGANE, H.; RIGOS, G.; ANTIGONI, V.; MENTE, E.; SWEETMAN, J.; NENGAS, I. Evaluation of zinc supplementation in Europe sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juvenile diets. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 208-216, 2010.

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.

HARDY, R. W. Nutritional deficiency in commercial aquaculture: likelihood, onset and identification. In: LIM, C.; WEBSTER, C. D (eds). **Nutrition and Fish Health**. The Haworth Press Inc. Binghamton, New York, p.131-147, 2001.

HALVER, J. E.; HARDY, R. W. **Fish Nutrition**. London: Academic Press.
HILTON, J. W. 1989. The interaction of vitamins, minerals and diet composition in the diet of fish. **Aquaculture**; v. 79, p. 223-244, 2002.

HERMES LIMA, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: STOREY, K. B. (ed.) **Functional metabolismo: regulation and adaptation**, Ney Youk, John Wiley e Sons, Inc. p. 319-368, 2004.

IMMERSELL, F. V.; CAUWERTS, K.; DEVRIESE, L. A.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; Feed aditives to control salmonella in poultry. **World Poultry Science Journal**, v. 58, p. 501-5013, 2002.

JARAMILLO JR., F.; PENG, L.; GATLIN III, D. M. Selenium nutrition of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) bioavailability, toxicity and interactions with vitamin E. **Aquaculture Nutrition**, v.15, p. 160-165, 2009.

JENEY, G.; ANDERSON, D. P. Enhanced immune response and protection in rainbow trout to lin bacterin following prior immersion in immunostimulants. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 33, p. 51-58, 1993.

JOBLING, M., Feed Composition and Analysis. In: HOULIHAN, D., BOUJARD, T., JOBLING, M., Food Intake In fish, Oxford-UK, **Blackwell-Science**, p. 1-21, 2001.

KAMUNDE, C.; CLAYTON, C.; WOOD, C.M. Waterborne vs. dietary copper uptake in rainbow trout and the effects of previous waterborne copper exposure. **American Journal of Physiology** – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, v. 283, p. 69-78, 2002.

KIRON, V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, p. 111-133, 2012.

KLEBANOFF, S. J. Oxygen metabolites from phagocytes. In GALLIN, J.L., SNYDERMAN, R. **Inflammation: Basic principles and clinical correlates**. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins p. 721-768, 1999.

KUBTIZA, F.; Avanços na nutrição da tilápia: desempenho, imunidade e qualidade da carne. **Panorama da Aquicultura**. Edição 169, 2018.

LALL, S. P.; The Minerals. In: HALVER, John E.; HARDY, Ronald. W. **Fish Nutrition Third Edition Washington**: Academic Press, p. 260-300, 2002.

LIM C.; KLESIOUS, P.H.; WEBSTER, C.D. The role of dietary phosphorus, zinc, and selenium in fish health. In: LIM, Chhorn; WEBSTER, Carl D. **Nutrition and Fish health**. New York: Food Products Press. p. 201-212, 2001.

LIN, Y. H., SHIE, Y.; SHIAU, S. Y. Dietary copper requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture**, v. 274, p.161-165, 2007.

LIN. Y. H., SHIAU, S. Y. The effect of dietary selenium on the oxidative stress of grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed high copper. **Aquaculture**, v. 267, p. 38-43, 2007.

LIN, Y. H.; et al. Dietary copper requirement reevaluation for juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, with an organic copper source. **Aquaculture**, v. 310, p.173-177, 2010.

LIU, K.; WANG, X. J.; AJ, Q.; MAI, K., ZHANG, W.; Dietary selenium requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 10, p. 594 - 601, 2010.

LOVELL, T. Dietary Requirements. In: **Nutrition and feeding of fish**. 2. ed. Auburn: Kluwer Academic Publishers, p. 61-68, 1998.

MARTINS, M. L.; TAVARES DIAS, M.; FUJIMOTO, R. Y.; ONAKA, E. M.; NOMURA, D. T. Haematological alterations of *Leporinus macrocephalus* (*Osteichthyes: Anostomidae*) naturally ingested by *Goezia leporini* (Nematoda: *Anisakidae*) in Fish pond. **Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 640-646, 2004.

MARTINS, M. L.; MYIAZAKI, D. M. Y.; TAVARES DIAS, M. FENERICK Jr. J.; ONAKA, E. M.; BOZO, F.; FUJIMOTO, R. Y.; MORAES, F. R.; Characterization of the acute inflammatory response in the hybrid tambacu (*Poaractus mesopotamicus*

Colossoma macropomum female) (*Osteichthyes*). **Brasilian Journal of Biology**, v. 69, p. 631-637, 2009.

McDOWELL, L.R. Minerals in animal nutrition. Second Edition Amsterdam: **Elsevier Science**, p. 614, 2003.

MOURA, G. S. M.; SHAFER, B.; LANNA, E. A. T.; GLENNY, P.; FILER, K. Fontes de zinco em rações para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Anais da 49^o **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. A produção animal no mundo em transformação, p.1-3, 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirement of fish and shrimp**. Washington: National Academic Press; p.164-184, 2011.

NICOLAOU, K. C.; WINSSIGER, N.; HUGHES, R.; SMETHURST, C.; CHO, S. Y. et al. ZUSCHRIFTEN-New Selenium-Based Safety-Catch Linkers: Solid Phase Semisynthesis of Vancomycin. **Angewandte Chemie**. German Edition, v. 112, n.6, p. 1126-1130, 2000.

NORDBERG, J.; ARNER, E. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 31, n. 11, p. 1287-1312, 2001.

OLIVEIRA, R. C. O Panorama da aquicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 2, 2009.

ORTUÑO, J.; CUESTA, A.; RODRÍGUEZ, A.; ESTEBAN, M. A.; MESEGUER, J. Oral admistration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune responses of gilthead seabream (*Spaurus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.85, p.41-50, 2002.

PADUA, S. B.; ISHIKAWA, M. M.; SATAKE, F.; HISANO, H.; TAVARES DIAS, M. Valores para leucograma e trombograma de juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*) em condições experimentais de cultivo. **Revista brasileira de Medicina Veterinária**, v. 31, p. 282-287, 2009.

PAULSEN, S. M.; ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, B. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast glucan and bacterial lipopolysaccharide. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 11, p. 23-37, 2001.

PAULSEN, S. M.; LUNDE, H.; ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, B. In vivo effects of Bglucan and LPS on regulation of lysozyme activity and Mrna expression in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish Shell fish Immunology**, v.14, p. 39-54. 2003.

PEIXEI BR; **Anuário Peixe BR da Piscicultura**; Associação Brasileira da Piscicultura; 2021.

RANZINI PAIVA, M.J.T. Hematologia como ferramenta para avaliação da saúde de peixes. In. BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; **2º Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes**. Anais, p. 47-51, 2007.

RANZANI PAIVA, M.J.T.; PÁDUA, S.B.P.; TAVARES DIAS, M.; EGAMI, M.I. **Métodos para análise hematológica em peixes**, 1ª ed.; EDUEM 2014.

RIDHA, M. T.; AZAD, I. S. Preliminary evaluation of growth performance and immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* supplemented with two putative probiotic bacteria. **Aquaculture Research**, v.43 – 6, p. 843- 852, 2012.

ROTLANT, J.; TORT, L.; Cortisol and glucose response after acute stress in the sparid red porgy (*Pagrus pagrus*) previously subjected to crowding stress. **Journal Fish Biology**, n. 51, p.21-29, 1997.

ROSTAGNO, H. S.; ALGINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; ABREU, M. L. T.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos** n. 4, 2017.

SAHOO, P. K., KUMARI, J.; MISHRA, B. K. Non- specific immune responses in juveniles of Indian major caps. **Journal of Applied Ichthyology**. v.21, n. 2, p. 151-155, 2005.

SAHOO, P. K.; MUKHERJEE, S. C. The effects of dietary immunomodulation upon *Edwardsiella tarda* vaccination in healthy and immunocompromised Indian major carp (*Labeo rohita*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 12, n. 1, p. 1 – 16, 2002.

SAURABH, S.P; SAHOO, K. Lysozyme: an important defence molecule of Fish innate immune system. **Aquaculture Research**, v. 39: p. 223-239, 2008.

SATAKE, F.; PÁDUA, S. B.; ISHIKAWA, M. M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In TAVARES DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. 1º ed. Macapá: Embrapa Amapá, p. 330-345, 2009.

SANTOS, G. L.; LUDKE, M. C. M. M.; LIMA, R.; Extratos vegetais como aditivos para rações de peixes. **Revista eletrônica nutritime**, v. 6, n. 1, p. 789-800, 2009a.

SANTOS, A. A.; EGAMI, M.I.; RANZANI PAICA, M.J.T.; JULIANO, Y. Hematological parameters and phagocytic activity in fat snook (*Centropomus parallelus*): seasonal variation, sex and gonadal maturation. **Aquaculture**, v. 296, p. 359-366, 2009b.

SANZ, F. (Org.). **La nutrición y alimentación en piscicultura**. Madrid: Fundación Observatorio Español de Acuicultura, 2009.

SARKER, S. A.; SATOH, S.; KIRON, V. Inclusion of citric acid and/or amino acidchelated trace elements in alternate plant protein source diets affects growth and excretion of nitrogen and phosphorus in red sea bream *Pagrus major*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 262, p. 436-443, 2007.

SECOMBES, C. J.; OLIVER, G.; Host pathogen interactions in salmonids In: Bernoth, Elis, Midtlying, Oliver, Smith, eds. *Furunculosis: multidisciplinary Fish disease research*. London, Academic Press, p. 269-296, 1997.

SIGNOR, A. Desempenho produtivo e resistência ao estresse pelo frio da tilápia do Nilo alimentada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco. Dissertação de mestrado; Caunesp, Jaboticabal, 2006.

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

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P.; Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 1, n. 12, p. 21-32, 1999.

SOARES, C. M.; HAYASHI, C.; GONÇALVES, G. S.; GALDIOLI, E. M.; BOSCOLO, W. R. Plâncton, *Artemia* sp, dieta artificial e suas combinações no desenvolvimento e sobrevivência do quinguio (*Carassius auratus*) durante a larvicultura. **Acta Scientiarum**, v.22, p. 383-388, 2000.

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.

SUNYER, J. O.; TORT, L.; LAMBRIS, J. D.; Diversity of the third form of complement, C3, in Fish: functional characterization of five forms of C3 in the diploid Fish *Sparus aurata* **Biochemical Journal**, n. 326, p. 877-881, 1997.

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

TAVARES DIAS, M.; ONO, E. A.; PILARSKI, F.; MORAES, F. R. Can thrombocytes participate in the removal of cellular debris in the blood circulation of teleost Fish? A histochemical study and ultrastructural analysis. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 23, p. 709-712, 2007.

TAVARES DIAS, M.; SANDRIM, E. F. S.; CAMPOS FILHO, E. Características hematológicas do tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier (*Osteichthyes, Characidae*) em sistema de monocultivo intensivo. II Leucócitos. **Revista brasileira de Zoologia**, v. 16, p. 175-185, 1999.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária**: uma introdução. São Carlos: Roca, p. 532, 2002.

THRALL, M.A. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, p. 582, 2007.

TURRY, G. R. I.; AMAMOTO Y. C. P.; PORTINHO, C. P. Sistema Complemento: Ativação, Regulação e Deficiências Congênitas e Adquirida. **Revista da Associação Brasileira de Medicina**. v. 47, n. 1, p. 41-51, 2001.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assesement: a review. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 13, n. 2, p. 57-149, 2003.

WANG, C.; LOVELL, R. T., Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than inorganic selenium source, sodium selenite in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 152, p. 223-234, 1996.

WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 151, p. 185-207, 1997.

YAMAMOTO, F.Y. Microminerais (Cu, Fe, Mn, Se e Zn) na nutrição de peixes, uma revisão bibliográfica. (Conclusão de curso em Engenharia de Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

ZHANG, J. F.; GUO, H. Y.; WU, J. C.; XUE, Y. Q.; Effects of water-soluble fractions of diesel oil on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus*. **Ecotoxicol Environ Saf**, v. 58, n. 1, p. 110-116, 2004.