

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Avaliação de um blend biotecnológico na
qualidade de água, desempenho produtivo e
saúde de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis
niloticus*)**

Amanda Miyuki Oshiro
Zootecnista

Jaboticabal, São Paulo
2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Avaliação de um blend biotecnológico na
qualidade de água, desempenho produtivo e
saúde de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis
niloticus*)**

Amanda Miyuki Oshiro

Orientador: Dr. Leonardo Susumu Takahashi

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Aquicultura do
Centro de Aquicultura da UNESP -
CAUNESP, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre

Jaboticabal, São Paulo.
2022

O82a	Oshiro, Amanda Miyuki Avaliação de um blend biotecnológico na qualidade de água, desempenho produtivo e saúde de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) / Amanda Miyuki Oshiro. -- Jaboticabal, 2022 46 p. : il., tabs. Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Leonardo Susumu Takahashi 1. Biorremediação. 2. Tilápia do Nilo. 3. Qualidade de Água. 4. Sustentabilidade. I. Título.
------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Avaliação de um blend biotecnológico na qualidade de água, desempenho produtivo e saúde de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

AUTORA: AMANDA MIYUKI OSHIRO

ORIENTADOR: LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI

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



Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / FCAT/Unesp, Dracena-SP



Prof. Dr. RICARDO BORGHESI (Participação Virtual)
/ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Rodovia SP 340, KM 127 S/N,
Jaguarüna-SP



Prof. Dr. DANIEL NICODEMO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / FCAT/Unesp, Dracena-SP

Jaboticabal, 02 de maio de 2022

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação do efeito de um biorremediador no desempenho produtivo de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e na qualidade de água**", protocolo nº 605/22, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Leonardo Sussumu 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 16 de fevereiro de 2022.

Vigência do Projeto	10/03/2022 a 10/06/2022
Espécie / Linhagem	tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)
Nº de animais	6.000
Peso / Idade	15g / 90 dias
Sexo	Macho
Origem	Laboratório de Tilapicultura do Centro de Aquicultura da Unesp

Jaboticabal, 20 de fevereiro de 2022.



Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

DADOS CURRÍCULARES DO AUTOR

AMANDA MIYUKI OSHIRO – nasceu em Itu-SP, no dia 20 de abril de 1995. Em agosto de 2014 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Dracena, realizando cursos e iniciações científicas na área de piscicultura com bolsas financiadas pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), realizou um estágio de pesquisa no exterior (BEPE), na cidade de Almería - Espanha, e trabalho de conclusão de curso intitulado: “Metabolismo intermediário do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com níveis de proteína digestível derivados do método de diluição” na área de nutrição e metabolismo intermediário de peixes, orientada pelo professor Dr. Leonardo Susumu Takahashi. Em junho de 2019, graduou-se em Zootecnia. Em outubro de 2019, ingressou no curso de Mestrado em Aquicultura no Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal - SP, sob orientação do professor Dr. Leonardo Susumu Takahashi, com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Em agosto de 2020, começou a trabalhar na Korin Agricultura e Meio Ambiente, Ipeúna-SP, como Trainee em Nutrição Animal e atualmente é integrante da equipe de Ciências e Suporte Técnico.

Dedico,
*À minha filha Marina que me
acompanhou durante esta trajetória e é
a melhor parte de mim.*

AGRADECIMENTOS

A Deus e Meishu-Sama por sempre iluminarem os meus passos e pelas graças concedidas até o dia de hoje.

Aos meus pais, Eduardo e Sônia, por sempre me incentivarem, me apoiarem e nunca me deixarem desistir dos meus sonhos. Vocês são o meu maior exemplo de amor.

A minha filha Marina, amor da minha vida e a quem eu dedico todo esforço.

Ao meu namorado Rafael por todo apoio, companheirismo e paciência.

A todas minhas amigas da República 4x4 que me acolheram num momento muito difícil de 2021. Saibam que serei eternamente grata por todos os momentos que compartilhamos juntas.

Agradeço também as amigadas que compartilho desde minha graduação: Letícia Ribeiro, Sandie Barbosa, Jéssica Tuane e Júlia Horta.

Aos meus amigos do GAUD por todos os momentos de risadas, de trabalho e coletas. Obrigada pela equipe!

Ao meu orientador professor Dr. Leonardo Susumu Takahashi pela imensa paciência, parceria e ensinamentos ao longo de todos esses anos. Léo, você é uma grande inspiração para mim.

Aos meus amigos de equipe da Korin Agricultura e Meio Ambiente pelo apoio e incentivo a pesquisa, principalmente ao Antônio. A Dayana por sempre acreditar em minha capacidade, pela confiança, compreensão e por todos os ensinamentos. Sem você não seria possível.

Ao Sérgio Homma, Luiz Demattê, Jorge Xavier e Mariana Nagata por todas as vezes que me fizeram crescer e por tornarem o experimento possível.

Aos membros da banca pela disponibilidade de estarem presentes, e principalmente, por cada contribuição, sugestão e dicas valiosas ao engrandecimento do nosso trabalho.

Aos técnicos do Caunesp por toda ajuda e disponibilidade, em especial ao Luiz e a Silvinha. Ao professor Dalton por ter disponibilizado a instalação experimental e seus alunos pela ajuda. A professora Lúcia Helena Sipaúva-Tavares pelo auxílio nas análises de qualidade de água.

MUITO OBRIGADA!!

APOIO FINANCEIRO

Recurso proveniente da Korin Agricultura e Meio Ambiente ao qual este trabalho está vinculado.



SUMÁRIO

RESUMO.....	10
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Importância da qualidade de água na piscicultura.....	13
1.2 Biorremediação.....	14
1.3 Sistema Imune.....	18
1.4 Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	19
2. OBJETIVO.....	20
3. REFERÊNCIAS.....	20
CAPÍTULO 2 – Avaliação do efeito de um blend biotecnológico no desempenho produtivo, nas vilosidades intestinais e no sistema imune de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) e na qualidade de água.....	27
RESUMO.....	27
CHAPTER 2 – Evaluation of the effect of a biotechnological blend on productive performance, intestinal villi and immune system of Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) juveniles and water quality.....	28
ABSTRACT.....	28
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
2.1 Instalações e condições experimentais.....	30
2.2 Delineamento experimental.....	31
2.3 Variáveis avaliadas.....	32
2.3.1 Parâmetros físico-químicos da água.....	32
2.3.2 Desempenho produtivo.....	33
2.3.3 Vilosidades intestinais.....	33
2.3.4 Variáveis hematológicas.....	34
2.3.5 Indicadores do sistema imune inato.....	34
2.3 Análise dos resultados.....	36
3. RESULTADOS.....	36
4. DISCUSSÃO.....	39
5. CONCLUSÃO.....	44
6. REFERÊNCIAS.....	44

RESUMO

O acompanhamento dos parâmetros físico-químicos de viveiros voltados à produção de organismos aquáticos pode contribuir para a manutenção de níveis adequados de qualidade da água, impedir eventuais problemas produtivos e ainda, melhorar a sustentabilidade. Nos últimos anos, o uso de microrganismos capazes de degradar os contaminantes oriundos das excretas animais e dos restos de ração despertou o interesse da comunidade científica. O estudo foi desenvolvido para avaliar o efeito de um blend biotecnológico na qualidade de água, no desempenho produtivo da tilápia, nas vilosidades intestinais e no sistema imune. Os dados foram submetidos a ANOVA e teste de Duncan (5%). O uso do blend biotecnológico se mostrou eficaz nos parâmetros de qualidade de água, incrementou o desempenho zootécnico e modulou o sistema imune dos juvenis de tilápia-do-Nilo.

Palavras-chave: Biorremediação, Microrganismos, Probiótico, Sustentabilidade.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

No setor agroalimentar o ramo que mais cresce em todo o mundo é a aquicultura, atividade que desenvolve técnicas de cultivo e reprodução de organismos aquáticos. Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura - FAO (FAO, 2021) as regiões com maior potencial de expansão estão na Ásia, África, América Latina e Caribe. Na década de 70, a aquicultura correspondia inicialmente a 4% do pescado consumido no mundo, contudo, a partir do ano de 2015 superou a pesca no fornecimento de pescado para consumo humano, representando 53% de toda a produção de carne de peixes (HAMILTON, 2020).

No Brasil, a situação não é diferente, a aquicultura é uma das atividades mais promissoras e tem gerado resultados socioeconômicos expressivos. Segundo Ostrensky et al. (2020), a produção aquícola brasileira tem crescido acima da média mundial. Dentre as atividades desenvolvidas na aquicultura, um setor de grande destaque é a piscicultura. Esta notoriedade se deve, principalmente, a grandes extensões territoriais, cerca de 8,5 milhões de km² (FAO, 2018), boa disponibilidade de recursos hídricos, boas áreas para construções de tanques e açudes, além de muitas espécies passíveis de serem cultivadas (ANA, 2020; MENEZES et al., 2003).

O crescimento da população, as mudanças nos hábitos alimentares e a melhora no poder aquisitivo, contribuíram para o aumento no consumo de pescado e para o fortalecimento da piscicultura no mercado, uma vez que a carne de peixe é reconhecida como um dos alimentos mais saudáveis, por ser boa fonte de aminoácidos e ácidos graxos poli-insaturados (XU et al., 2019).

De acordo com os dados fornecidos pela Peixe BR, a produção nacional de peixes atingiu 802.930 toneladas em 2020, um crescimento que representou 5,9% quando comparado ao ano anterior (PEIXE BR, 2021). O carro chefe da produção brasileira é a tilápia e embora não seja uma espécie nativa, sua produção aumentou 12,5% em 2020, uma vez que seis a cada dez peixes cultivados no Brasil são tilápias. A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) consolidou-se na cadeia produtiva pela facilidade de cultivo, rusticidade e por apresentar uma carne de alta aceitabilidade pelos consumidores,

correspondendo a 60,6% da produção nacional (BARROSO et al., 2017; PEIXE-BR, 2021).

A expansão da atividade tem sido uma forma de suprir a alta demanda mundial por pescado, com um consumo médio de 20,3 kg de pescado por pessoa ao ano, e que segundo o relatório da Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura - FAO (FAO, 2020) deve chegar a 21,5 kg até o ano de 2030. Ainda de acordo com a FAO (2020), estima-se que a produção de pescado pela aquicultura ultrapasse a produção da pesca de captura, atingindo 53% da produção total de pescado até o ano de 2030.

Diante do exposto, a intensificação da piscicultura, como qualquer outra atividade, apresenta vantagens e desvantagens. A principal vantagem da intensificação é a capacidade de produzir mais em uma área reduzida, alta eficiência e previsibilidade de produção (NUNES, 2019). Contudo, essa intensificação faz com que haja uma maior entrada de resíduos nitrogenados nos meios de cultivo, que são resultantes do alimento não consumido e das excretas dos peixes que se decompõem, resultando em aumento na concentração de amônia e, conseqüentemente, nitrito e nitrato (SCHULTER e VIEIRA-FILHO, 2017). Esses problemas relacionados ao acúmulo de nutrientes vêm gerando preocupações quanto a sustentabilidade desses empreendimentos e alguns autores enfatizam que com os sistemas intensificados, o acúmulo de resíduos nitrogenados leva a deterioração na qualidade de água, sendo o principal fator limitante da produtividade (STRAIN, 2005; LI e BOYD, 2016).

Em vista disso, uma medida promissora para mitigar esses problemas seria o uso de ferramentas que visam a alta eficiência e melhor aproveitamento dos nutrientes, promovendo a melhoria da qualidade de água e o bem-estar dos animais (LITTLE et al., 2018; DE-MORAIS et al., 2020). Nesse contexto, tecnologias mais sustentáveis vêm ganhando importância quanto às suas aplicações e efeitos em empreendimentos aquícolas, dentre estas destaca-se a biorremediação (REN et al., 2019).

1. INTRODUÇÃO

1.1 Importância da qualidade de água na piscicultura

A piscicultura, como qualquer outra atividade de produção, gera efluentes que alteram as condições ideais do corpo de água receptor. Segundo Piedrahita (2003), em sistemas intensivos, a produção gera um excesso de matéria orgânica e nutrientes que podem ocasionar danos ao ambiente. Diante disso, os dejetos dos peixes e as sobras de alimento podem contribuir para impactos ambientais relevantes, além do insucesso econômico e produtivo (AVNIMELECH, 2009), como a perda da biomassa aquática e da biodiversidade (LEFRANÇOIS et al., 2010).

O bom desempenho produtivo, assim como a saúde dos peixes e de outros organismos aquáticos, depende de uma boa qualidade de água (MERCANTE et al., 2018; ISHIKAWA et al., 2020). Diversos autores ressaltam que a manutenção da qualidade de água em viveiros de piscicultura tornou-se requisito básico para uma boa criação de peixes, sendo que essa qualidade pode ser influenciada por diversos fatores (SIPAÚBA-TAVARES, 2010; BOYD e TUCKER, 1998; ELER et al., 2001; KUBITZA, 2003; ARANA, 2004; MERCANTE et al., 2004; 2005; 2006; 2007). Vale ressaltar que a deterioração na qualidade de água proporciona um ambiente de estresse aos peixes, tornando-os predispostos ao desenvolvimento de doenças (ISHIKAWA et al., 2020).

Dentre os parâmetros físico-químicos que refletem a qualidade de água e que devem ser analisadas com cautela estão: temperatura, concentração de oxigênio dissolvido, potencial hidrogeniônico, demanda bioquímica de oxigênio, concentração de amônia, concentração de nitrito e concentração de nitrato e transparência da água (ZHAO et al., 2021). Diferentemente dos mamíferos, os peixes são animais pecilotérmicos e, como característica destes animais, a temperatura corporal dos peixes varia de acordo com a temperatura ambiente. Sabe-se ainda que a temperatura possui relação direta com as atividades fisiológicas, mas o metabolismo também é influenciado pela temperatura e valores, tanto acima quanto abaixo da faixa adequada, podem afetar o desempenho dos animais (ARANA, 2004; MORO et al., 2013).

Concentrações adequadas de oxigênio dissolvido são fundamentais para garantir o crescimento ideal dos animais, assegurar a eficiência alimentar e a sobrevivência (KUBITZA, 2003). Além de ser um recurso imprescindível à

qualquer espécie com vida, a concentração de oxigênio dissolvido atua como um ótimo indicador da qualidade da água (FREIRE, 2010).

O potencial hidrogeniônico ou pH pode ser definido como a concentração de íons H^+ na água e seus valores norteiam se esta encontra-se em reação ácida ou alcalina (KUBITZA, 2003; MORO et al., 2013). A escala do pH abrange valores de 0 a 14, sendo a faixa ideal para o comportamento normal dos peixes de 6,5 a 8,0 (EMBRAPA, 2009; KUBITZA, 2003)

De maneira simplificada, a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), pode ser definida como a quantidade de oxigênio dissolvido que foi consumido pelos microrganismos durante um determinado período, com uma temperatura específica de incubação (VON SPERLING, 2005). Segundo Freire (2010), a DBO é um parâmetro muito importante, pois indica o nível de poluição da água de cultivo, uma vez que reflete a fração da matéria orgânica que é biodegradável.

Proveniente da excreção e da decomposição de resíduos, a amônia (NH_3) é considerada um poluente preocupante em ambientes aquáticos, pois ela é capaz de atravessar a membrana celular dos peixes sem muito esforço (MEHTA, 2017; MARTINEZ et al., 2006; KUBITZA, 2003). Já o nitrito (NO_2^-) é oriundo da oxidação da amônia através da nitrificação (HA et al., 2019). Esse composto pode causar toxicidade aos animais (ESTEVES, 2011). Esse composto nitrogenado provoca a asfixia em peixes e isto pode ser explicado pela oxidação da hemoglobina em metahemoglobina, impossibilitando o transporte de oxigênio, ocasionando estresse aos peixes (VINATEA ARANA, 2004; ALBANEZ & MATOS, 2007). Embora não seja um composto tóxico importante para a aquicultura, quando em altas concentrações, o nitrato afeta negativamente o metabolismo dos animais cultivados (VINATEA ARANA, 2004).

1.2 Biorremediação

Atualmente, existem várias tecnologias capazes de recuperar ou remediar ambientes aquáticos com considerável contaminação. Dentre elas, destaca-se a remediação. O termo remediação envolve a retirada de potenciais ou reais fontes contaminantes dos locais impactados (RODRIGUES, 2013).

Quando se utiliza espécies vivas para a descontaminação do meio aquático, geralmente microrganismos, o termo correto é biorremediação. A biorremediação consiste em proporcionar condições ideais para que os

microrganismos consigam transformar ou decompor os contaminantes e, assim, degradar os poluentes encontrados (KARIGAR e RAO, 2011; RODRIGUES, 2013). Essa tecnologia vêm se mostrando como uma técnica eficiente, potente e economicamente viável (FULEKAR e GEETHA, 2009).

De maneira geral, podemos classificar os processos de biorremediação em duas categorias: *in situ* e *ex situ* (SHIVALKAR et al., 2020). Visando melhorar a problemática associada ao acúmulo de matéria orgânica em viveiros, a biorremediação *in situ* se apresenta como a mais adequada, pois não exige a retirada do sedimento (LOPES, 2021).

A biorremediação microbiana destaca-se como a preferida, uma vez que é capaz de destruir e até imobilizar os contaminantes de forma eficaz (GADD, 2000). Isto é, os agentes microbiológicos utilizam o nitrogênio e fósforo como fonte de nutrientes (JASMIN et al., 2020; HASSAN et al., 2003). Os microrganismos utilizados no processo de biorremediação diferem quanto a fonte de carbono que precisam, por exemplo, alguns são capazes de sintetizar o alimento utilizando substâncias inorgânicas (MUSYOKA, 2016), outros utilizam a energia solar como fonte de energia (JASMIN et al., 2020).

As bactérias autotróficas conseguem adsover e transformar o fósforo e o nitrogênio para proliferar. Já as bactérias heterotróficas são capazes de destruir ou imobilizar a matéria orgânica não viva para produção de carbono. Vale ressaltar que elas não são as principais contribuintes no processo de nitrificação e desnitrificação, mas contribuem consideravelmente, para reduzir essa carga (EBELING et al., 2006). Para a produção de organismos aquáticos, os microrganismos mais utilizados para biorremediação são as bactérias do gênero *Bacillus*, as bactérias ácido lácticas do gênero *Lactobacillus* (ANTONY e PHILIP, 2006) e leveduras *Saccharomyces* (CRUZ et al., 2012).

As bactérias do gênero *Bacillus* e *Lactobacillus* apresentam características mais favoráveis por serem consideradas seguras ou reconhecidamente seguras (COLLINS et al., 1998; LEE et al., 1999). Diferentes testes de biorremediação na aquicultura, envolvendo as bactérias do gênero *Bacillus*, já foram realizados. Segundo Dyva et al. (2015), em condições laboratoriais essas bactérias demonstraram capacidade de reduzirem a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), teores de amônia e nitrogênio total em efluentes de uma unidade de processamento de pescado.

Em tanques de produção de camarões (*Penaeus monodon*), um consórcio bacteriano composto por *Bacillus* spp. foi utilizado e após a aplicação observou-se a diminuição de bactérias patogênicas do gênero *Vibrio* spp. e a redução dos teores de matéria orgânica (DALMIN et al., 2001). Outro consórcio bacteriano (*Bacillus subtilis*, *Nitrosomonas* spp., *Nitrobacter* spp. e *Rhodobacter* spp.) foi aplicado em efluentes de aquicultura durante sete dias e foi capaz de reduzir os teores de amônia, nitrito, nitrato e DBO (SONIA et al., 2015). Aplicando diferentes dosages de *Bacillus subtilis* em tanques de produção de *Clarias gariepinus* por cinco dias, Anggraini et al. (2019) observaram redução nos teores de matéria orgânica total, sendo que no tratamento com concentração de 10^6 UFC g⁻¹ foi observada uma redução de, aproximadamente, 85,3% no teor de matéria orgânica total.

As bactérias ácido-láticas possuem capacidade efetiva no combate a uma série de microrganismos patogênicos e infecções (VERSCHUERRE et al., 2000). O uso dessas bactérias tem demonstrado um efeito positivo devido a rápida capacidade de colonizar o trato gastrointestinal e aumentar a resposta do sistema imune não específico frente a um desafio (DOTTA et al., 2011; JATOBÁ et al., 2011). Isto pode ser justificado pelo fato desses microrganismos se aderirem à parede intestinal e criarem uma espécie de barreira imunológica, competindo com os microrganismos patógenos por sítios de adesão (STROMPFÓVÁ et al., 2014; GRZEŚKOWIAK, 2015).

Segundo Pacheco et al. (2021), tilápias-do-Nilo apresentaram maiores ganho de peso semanal, peso final e melhor conversão alimentar quando alimentadas com bactérias do gênero *Lactobacillus*. Talpur et al. (2013), observaram que a inclusão de *Lactobacillus plantarum* melhoraram a qualidade da água em produções de organismos aquáticos não convencionais, como em fazendas de caranguejos.

Até mesmo com a aplicação através da ração, efeitos benéficos sobre a qualidade de água foram observados. Thurlow et al. (2019) encontraram redução dos teores de fósforo, nitrogênio e nitrato quando alimentaram *Ictalurus punctatus* com dieta suplementada com bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bacillus*.

Apesar das bactérias serem os representantes mais utilizados na biorremediação, alguns fungos como a *Saccharomyces cerevisiae* também

despertou o interesse de alguns pesquisadores. Essa levedura, além de atuar diretamente no peixe, promovendo a colonização do intestino (MEURER et al., 2007), atua também no meio aquático, através do combate à algumas doenças bacterianas (MEURER, 2005). Além disso, ela é capaz de alterar a microbiota da mucosa, trazendo benefícios ao organismo do peixe (GALLINA et al., 2009).

Alguns estudos realizados por Hisano et al. (2008) comprovaram que a *S. cerevisiae* pode ser facilmente incorporada durante o processamento da ração. E sua inclusão nas dietas dos peixes melhoram a conversão alimentar, o ganho de peso e o consumo da dieta de alevinos de tilápias-do-Nilo (SCHWARZ et al., 2010).

As bactérias *Lactobacillus plantarum* em conjunto com a *S. cerevisiae* demonstraram melhores resultados para ganho de peso, aumento da atividade enzimática e aumentaram a absorção dos nutrientes presente na ração em tilápias-do-Nilo (MAURILIO et al., 2002; ESSA et al., 2010).

O blend biotecnológico, elaborado pela Korin Agricultura e Meio Ambiente, disponibiliza alguns microrganismos, com boa capacidade de multiplicação e produção enzimática, que reduzem efetivamente estes resíduos e disponibilizam energia para o crescimento de outras bactérias benéficas ao sistema. Os microrganismos presentes beneficiam a redução dos compostos nitrogenados a partir do estímulo à nitrificação e sua ação no processo de desnitrificação (Figura 2).

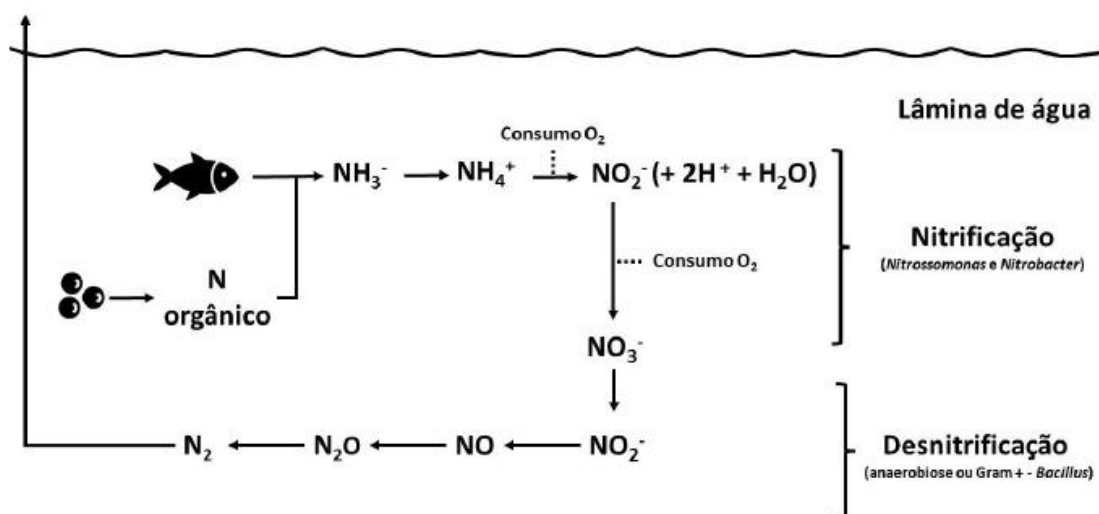


Figura 1. Processo de nitrificação e desnitrificação na aquicultura. Fonte: Adaptado de Antony e Phillip (2006).

A nitrificação é o processo em que bactérias como as *Nitrosomonas* oxidam amônia em nitrito para que bactérias como as *Nitrobacter* convertam nitrito em nitrato. Esse é um processo que libera prótons e por conseguinte acidifica ligeiramente o pH da água, o que aumenta a disponibilidade de materiais solúveis. Sem filtros desnitrificantes, o nitrato se acumula na coluna d'água e não é convertido a nitrogênio, o que cria uma região anaeróbica e prejudica o cultivo. As bactérias do gênero *Bacillus*, por exemplo, possuem a capacidade de reduzir o nitrato em gás nitrogênio que é eliminado no ar (Figura 1).

1.3 Sistema Imune

O sistema imune compreende estruturas e processos biológicos que defendem o organismo contra infecções, substâncias patogênicas ou estranhas e é considerado um importante mecanismo que garante a sobrevivência de todos os animais (ZHU et al., 2012). Semelhante aos vertebrados superiores, diante de desafios, o sistema imune é estimulado e diversos mecanismos de defesa são desencadeados (ELLIS, 1999). Tais respostas imunológicas atuam com o objetivo de destruir os invasores (bactérias, fungos, vírus ou parasitas) e são divididas em inatas (não específico) e adaptativas (específico), podendo ser influenciadas por uma gama de fatores, tais como: micro e macronutrientes, efeitos hormonais e agentes estressores (FLETCHER, 1997).

O sistema imune inato atua na primeira linha de defesa e é caracterizado por barreiras físicas e químicas, além de algumas células e moléculas. É comum a todos os organismos e é o sistema mais antigo na escala filogenética (JANEWAY, 1989; ELWARD e GASQUE, 2003; GOLDSBY et al., 2003). O tegumento, as células de defesa orgânica e os componentes humorais são os componentes do sistema imune inato (URBINATI et al., 2020).

Num primeiro momento, o tegumento, como a pele e o muco, é suficiente para barrar a entrada de patógenos, uma vez que na superfície do corpo dos peixes existem células especializadas na secreção de substâncias bactericidas, impedindo a entrada desses microrganismos. No entanto, caso não seja suficiente, os componentes celulares e humorais são sinalizados e atuam reconhecendo o agente invasor e agem na tentativa de degradá-lo (SUBRAMANIAN et al., 2007; ELLIS, 1999).

Os componentes celulares, também conhecidos como células de defesa orgânica, são outro pilar importante do sistema imune. De maneira simplificada, os granulócitos são os primeiros a entrarem em ação, atingindo o foco da inflamação e destruindo o patógeno. O segundo grupo a atuar são os macrófagos, responsáveis por fagocitar os detritos celulares. As células *natural killers* produzem imunorreguladores de citocinas e lisam células estranhas (RAULET, 2004; MAGNADÓTTIR, 2006; URBINATI et al., 2020).

Existe também a ação dos componentes humorais que são muito utilizados no diagnóstico de doenças e que inibem o crescimento de bactérias como por exemplo, o sistema complemento (BAYNE e GERWICK, 2001). Esse sistema é considerado um dos mais importantes mecanismos de defesa do sistema inato e mediador dos processos inflamatórios (URBINATI et al., 2020).

Em contrapartida, o sistema imune adaptativo é acionando somente na presença de um antígeno, ocorrendo um aumento de anticorpos na circulação e formando uma espécie de memória imunológica. Pode-se afirmar que o sistema imune adaptativo existe quando o organismo foi previamente exposto ao patógeno (URIBE et al., 2011). Diante disso, a ação do sistema não específico e específico buscam garantir a sobrevivência dos animais, uma vez que em ambiente aquáticos há uma vasta variedade de microrganismos.

1.4 Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

O nome tilápia é comum para várias espécies da família Cichlidae e engloba os gêneros *Oreochromis* e *Sarotherodon* (TREWAVAS, 1983). São originárias da África e Palestina, com exceção de Madagascar (PHILIPPART e RUWET, 1982).

A tilápia-do-Nilo passou a ocupar o 3º lugar no ranking mundial das espécies de peixes mais produzidas no mundo (FAO, 2020). O Brasil consolida-se como o 4º maior produtor de tilápia no ranking mundial. Entre os estados produtores dessa espécie, o Paraná tem o destaque absoluto com 166.000 toneladas, deixando São Paulo na segunda colocação entre os estados brasileiros (PEIXE BR, 2021).

As tilápias possuem o corpo lateralmente comprido, coberto com grandes escamas cicloides, possuem nadadeiras dorsais e uma coloração prata com estrias verticais que variam de verde oliva a cinza (EL-SAYED, 2019). De

maneira geral, apresentam hábito alimentar herbívoro-onívoro, mas a *Oreochromis niloticus* alimenta-se também de fitoplâncton, perifíton, plantas aquáticas e pequenos invertebrados (EL-SAYED, 2019).

A tilápia-do-Nilo apresenta carne branca com boa aceitação no mercado e não apresentam espinhas em formato de “Y”. Estudando o rendimento de carcaça dessa espécie, Silva et al. (2009) confirmaram que a tilápia-do-Nilo de 250 a 600 g de peso corporal, apresenta um rendimento de carcaça de 59,9%.

Uma das vantagens em se produzir essa espécie é a sua fácil adaptação em diferentes partes do mundo e fácil reprodução e rusticidade. Além disso, atingem a maturidade sexual entre o terceiro e quarto mês de idade, apresentando crescimento acelerado quando submetidas a criação intensiva (VICENTE et al., 2014). Por ser a espécie mais produzida em território nacional, pela rusticidade, fácil crescimento e adaptação aos sistemas de produção, a tilápia-do-Nilo foi escolhida como modelo biológico para o estudo proposto.

2. OBJETIVO

O principal objetivo do trabalho é verificar o efeito de um blend biotecnológico, produzido pela Korin Agricultura e Meio Ambiente, na qualidade de água de cultivo, no desempenho zootécnico, nas vilosidades intestinais e no sistema imune de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

3. REFERÊNCIAS

- ANGGRAINI, S.I.; ARFIATI, D.; NURSYAM, H. Effectiveness of *Bacillus subtilis* bacteria as a total organic matter reducer in catfish pond (*Clarias gariepinus*) cultivation. **International Journal of Biotech Trends and Technology**, v. 9(2), p. 7-10, 2019
- ANTONY, S.P.; PHILIP, R. Biomediation in shrimp culture system. *NAGA, WorldFish Center Quarterly*, v.29, n. 3-4, 2006.
- ARANA, L.V. Princípios Químicos de Qualidade da Água em Aqüicultura: uma revisão para peixes e camarões. 2 ed. revisão ampliada, Florianópolis: UFSC, p.231, 2004.
- ALBANEZ, J. R.; MATOS, A. T. Aquicultura. In: MACEDO, J. A. B. Águas & águas. 3. ed. Belo Horizonte: CRQ-MG, 2007.
- AVNIMELECH, Y. *Biofloc technology: a practical guide book*. **World Aquaculture Society**, 2009
- AZUMA, M.V.P. Actinobactérias com potencial biotecnológico isoladas da região entre-marés da ilha do mel. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p.95, 2011.

BARROSO, R.M.; PINCINATO, R.B.M.; MUNOZ, A.E.P. O mercado da tilapia - 2 trimestre de 2017 e Análise da estrutura do preço da tilápia no varejo. **Embrapa Pesca Aquic.** Newsletter, 1-19, 2017.

BAYNE, C.J.; GERWICK, L. The acute phase response and innate immunity of fish. **Developmental and Comparative Immunology**, v.25, n.8-9, p.725-43, 2001.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. Ecology of aquaculture ponds. In: **Pond aquaculture water quality management**. Springer, Boston, MA, p. 8-86, 1998.

COLLINS, J.K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G.O. Selection of probiotics strains for human applications. **Dairy Journal**, v.8, p.487-490, 1998.

DALMIN, G.; KATHIRESAN, K.; PURUSHOTHAMAN, A. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. **Indian J. Exp. Biol.** v.39(9), p.939-942, 2001.

DASH, P.; TANDEL, R.S.; BHAT, R.A.H.; MALLIK, S.; PANDEY, N.N.; SINGH, A.K.; SARMA, D. The addition of probiotic bacteria to microbial floc: Water quality, growth, non-specific immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* in mid-Himalayan altitude. **Aquaculture**, v.495, p. 961-969, 2018.

DE-MORAIS, A.P.M. et al. Effect of aeration intensity on the biofilm nitrification process during the production of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in biofloc and clear water systems. **Aquaculture**, v.514, 2020.

DIVYA, M.; AANAND, S.; SRINIVASAN, A.; AHILAN, B. Bioremediation—An eco-friendly tool for effluent treatment: A Review. **International Journal of Applied Research**, v.12, p.530-537, 2015.

DOTTA, G.; MOURIÑO, J.L.P.; JATOBÁ, A. et al. Acute inflammatory response in Nile tilapia fed probiotic *Lactobacillus plantarum* in the diet. **Acta Sci. Biol. Sci.**, v.33, p.239-246, 2011.

EBELING, J.M.; TIMMONS, M.B.; BISOGNI, J.J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, v.257, p. 346-35, 2006.

ELER, M.N.; CECCARELLI, P.S.; BUFON, A.G.M.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Mortandade de peixes (matrinxã, *Brycon cephalus* e pacu, *Piaractus mesopotamicus*) associada a uma floração de cianobactérias em pesque-pague, município de Descalvado, Estado de São Paulo, Brasil. Boletim Técnico do CEPTA, Pirassununga, v.14, p.35-45, 2001.

ELLIS, A.E. Immunity to bacteria in fish. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 9, n. 4, p. 291-308, 1999.

EL-SAYED, A.M. **Tilapia culture**. Academic Press, 2019.

EL-SAYED, A.M. **Tilapia culture**. 2. ed. Academic Press, 2020.

ELWARD, K.; GASQUE, P. “Eat me” and “don’t eat me” signals govern the innate immune response and tissue repair in the CNS: emphasis on the critical role of the complement system. **Molecular Immunology**, v. 40, n. 2-4, p. 85-94, 2003.

EMPRAPIA. Piscicultura em tanques -rede / Embrapa Amazônia Oriental. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.120, 2009.

ESTEVES, F. A. Fundamentos de limnologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.

ESSA, M.A.; EL-SERAFY, S.S.; EL-EZABI, M.M.; DABOOR, S.M.; ESMAEL, N.A.; LALL. Effect of different dietary probiotics on growth, feed utilization and digestive

enzymes activities of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the Arabian Aquaculture Society**, v.5, p.143-162, 2010.

FLETCHER, T.C. Dietary effects on stress and health. In: IWAMA, G.K.; PICKER805 ING, A.D.; SUMPETER, J.P.; SCHRECK, C.B. (Ed.). **Fish stress and health in aquaculture**. Cambridge: University Press, v. 62, p. 223-246, 1997.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in Action Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 2021.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in Action Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2018: meeting the sustainable development goals. Rome, Italy, 2018.

FREIRE, R.M. Análise da relação entre os custos e a intensidade da produção de tilápias em tanques-rede no açude Castanhão. TCC (Graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

FULEKAR, M.H.; GEETHA, M.; SHARMA, J. Bioremediation of Trichloropyr Butoxyethyl Ester (TBEE) in bioreactor using adapted *Pseudomonas aeruginosa* in scale up process technique. **Biology and Medicine**, v.1, n.3, p1-6, 2009.

GADD, M. Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization **Curr. Opin. Biotechnol.**, v.11, p.271-279, 2000.

GALLINA, T.; WENDT, E.W.; DIAS DE CASTRO. L.L. et al. Utilização de probióticos no controle de infecção de *Haemonchus contortus* em ovinos. In: **XVII Centro de Iniciação Científica**. Pelotas. 2009.

GOLTEMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. **Methods for physical and chemical analysis of freshwater**. London: Blackwell Sci. Publ. p.213, 1978.

GOLDSBY, R.A.; KINDT, T.J.; OSBORNE, B.A.; KUBY, J., Immunology, W.H. **Freeman and Company**, New York, p.551, 2003.

GOMEZ, I.D.F.; CRAMP, R.L.; FRANKLIN, C.E. Simultaneous exposure to nitrate and low pH reduces the blood oxygen-carrying capacity and functional performance of a freshwater fish. **Conservation Physiology**, v.8(1), p.1-15, 2020.

GRZEŚKOWIAK, L. Microbiota and probiotics in canine and feline welfare. **Anaerobe**, v.34, p.14-23, 2015.

HA, N.T.K.; HUONG, D.T.T.; PHUONG, N.T.; BAYLEY, M.; JENSEN, F.B. Impact and tissue metabolism of nitrite at two acclimation temperatures in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). **Aquatic Toxicology**, v.212, p.154-161, 2019.

HAMILTON, S.E. **Mangroves and aquaculture a five decade remote sensing analysis of Ecuador's estuarine environments**. Coastal Research Library Book 33. EUA: Springer, 2020.

HASSAN, B.A.; VENKATESHWARAN, A.A.; FREDRICKSON, J.K.; DALY, M.J. Engineering *Deinococcus geothermalis* for bioremediation of high temperature radioactive waste environments. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.69, p.4575-4582, 2003.

HLORDZI, V. The use of *Bacillus* species in maintenance of water quality in aquaculture: A review. **Aquaculture Reports**, v.18, p.1-12, 2020.

HISANO, H.; SAMPAIO, F.G.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E. Composição nutricional e digestibilidade aparente da levedura íntegra, da levedura autolisada e da parede celular pela tilápia-do-Nilo. **Ciência Animal Brasileira**, v.9. n.1. p.43-49. 2008.

ISHIKAWA, M.M.; QUEIROZ, J.F.; NASCIMENTO, J.L.; PÁDUA, S.B.; MARTINS, M.L. Uso de biomarcadores em peixe e boas práticas de manejo sanitário para a piscicultura. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p.28, 2020.

ISHIKAWA, M.; QUEIROZ, J.F.; NASCIMENTO, J.L.; PÁDUA, S.B.; MARTINS, M. Uso de biomarcadores em peixe e boas práticas de manejo sanitário para a piscicultura. *Embrapa Meio Ambiente-Docmentos (INFOTECA-E)*, 2020.

JANEWAY, C. Immunogenicity signals. **Immunology Today**, v. 10, n. 9, p. 283-286, 1989.

JASMIN, M.Y.; SYUKRI, F.; KAMARUDIN, M.S.; KARIM, M. Potential of bioremediation in treating aquaculture sludge. **Aquaculture**, v.519, p.734-905, 2020.

JATOBÁ, A.; NASCIMENTO VIEIRA, F.; BUGLIONE-NETO, C.C. et al. Diet supplemented with probiotic for Nile tilapia in polyculture system with marine shrimp. **Fish Physiol. Biochem.**, v.37, p.725-732, 2011.

KARIGAR, C.S.; RAO, S.S. Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. **Enzyme Research**, p.80-87, 2011.

KELLOCK, K.A.; MOORE, A.P.; BRINGOLF, R.B. Chronic nitrate exposure alters reproductive physiology in fathead minnows. **Environmental Pollution**, v.232, p.322-328, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.004>

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: GRASSHOFFK, K. **Methods of seawater Analysis**. Germany: Verlag Chemie Weinheim. p.117-187, 1976.

KUBITZA, F. Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões. São Paulo, 2003.

LALLOO, R.; RAMCHURAN, S.; RAMDUTH, D.; GÖRGENS, J.; GARDINER, N. Isolation and selection of *Bacillus* spp. as potential biological agents for enhancement of water quality in culture of ornamental fish. **Journal of Applied Microbiology**, v.103, p.1471-1479, 2007.

LATORRE, J.D. et al. Evaluation and selection of *Bacillus* species based on enzyme production, antimicrobial activity, and biofilm synthesis as direct-fed microbial candidates for poultry. **Frontiers in Veterinary Science**, v.3, p.1-9, 2016.

LEE, Y.K.; NOMOTO, K.; SALMINEN, S.; GORBACH, S.L. **Handbook of probiotics**. New York: Willey, 1999.

LEFRANÇOIS, P.; PUIGAGUT, J.; CHAZARENC, F.; COMEAU, Y. Minimizing phosphorus discharge from aquaculture earth ponds by a novel sediment retention system. **Aquacultural Engineering**, v.43, n.3, p.94-100, 2010.

LI, Y.; BOYD, C.E. Laboratory tests of bacterial amendments for accelerating oxidation rates of ammonia, nitrite and organic matter in aquaculture pond water. **Aquaculture**, v.460, p.45-58, 2016.

LOPES, G.R. Estratégias de biorremediação de sedimentos em viveiros de piscicultura com bactérias do gênero *Bacillus*: estudo em escala laboratorial, 2021.

MAGNADÓTTIR, B. Innate immunity of fish (overview). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 20, n. 2, p. 137-151, 2006.

MARTINEZ, C.B.R.; AZEBEDO, F.; WINKALER, E.U. Toxicidade e efeitos da amônia em peixes neotropicais. **Tópicos Especiais Em Biologia Aquática e Aqüicultura**, p.81-95, 2006.

MAURILIO, L.; MIGUEL, A.O.; BEATRIZ, E.G.; WILBERTH, L. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.216, p.193-201, 2002.

MEHTA, K. Impact of temperature on contaminants toxicity in fish fauna: a review. **Indian Journal of Science and Technology**, v.10, n.18, p.1-6, 2017.

MERCANTE, C.T.J.; PEREIRA, J.S.; MARUYAMA, L.S.; CASTRO, P.M.G.; MENEZES, L.B.; SENDACZ, S. Cargas de nitrogênio e fósforo de efluentes de pesque e pague visando a gestão de recursos hídricos: um estudo preliminar. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS HÍDRICOS SUL-SUDESTE, Curitiba, 2006. Anais, p.145.

MERCANTE, C.T.J.; DO CARMO, C.F.; RODRIGUES, C.J.; OSTI, J.A.S.; PINTO, C.S.M.; VAZ-DOS-SANTOS, A.M.; DI GENARO, A.C. Limnologia de viveiro de criação de tilápias do Nilo: avaliação diurna visando boas práticas de manejo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.37(1), p.73-84, 2018.

MERCANTE, C.T.J.; CABIANCA, M.A.; SILVA, D.; COSTA, S.V.; ESTEVES, K.E. Water quality in fee-fishing ponds located in the metropolitan region of São Paulo city, Brazil: an analysis of the eutrophication process. **Acta Limnological Brasiliensia**, v.16, n.1, p.95-102, 2004.

MERCANTE, C.T.J.; COSTA, S.V.; SILVA, D.; CABIANCA, M.A.; ESTEVES, K.E. Qualidade da água em pesque-pague da região metropolitana de São Paulo (Brasil): avaliação através de fatores abióticos (período seco e chuvoso). **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v.27, n.1, p.1-7, 2005.

MERCANTE, C.T.J.; MARTINS, Y.K.; CARMO, C.F.; OSTI, J.S.; MAINARDES-PINTO, C.S.R.; TUCCI, A. Qualidade de água em viveiro de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas, São Paulo, Brasil. **Bioikos**, v.21(2), p.79-88, 2007.

MEURER, F. Levedura (*Sacchaomyces cerevisiae*) como probiótico para as fases iniciais do cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). 2005. 85 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Estadual de Maringá. Maringá. 2005.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; COSTA, M.M; FRECCIA, A; MAUERWERK, M.T. *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia do Nilo submetidos a desafio sanitário. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36. n.5. p.1219-1224, 2007.

MOHAMAD, K.A.; MOHD, S.Y.; SARAH, R.S.; MOHD, H.Z.; RASYIDAH, A. Total nitrogen and total phosphorus removal from brackish aquaculture wastewater using effective microorganism. In: AIP Conference Proceedings, v.1885, n.1, p.020127, 2017.

MORO, G.V.; TORATI, L.S.; LUIZ, D.B.; MATOS, F.T. Monitoramento e manejo de qualidade da água em pisciculturas. In: Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos. Brasília, DF Embrapa, p.440, 2013.

MUSYOKA, S. N. Concept of microbial bioremediation in aquaculture wastes, 2016.

NADERI SAMANI, M.; JAFARYAN, H.; GHOLIPOUR, H.; HARSIJ, M.; FARHANGI, M. Effect of different concentration of profitable *Bacillus* on bioremediation of common carp (*Cyprinus carpio*) pond discharge. **Iranian Journal of Aquatic Animal Health**, v.2, n.2, p.44-54, 2016.

NUNES, A.J.P. A intensificação no cultivo de camarões: uma tendência inevitável para melhorar a eficiência produtiva e econômica. **Panorama da Aquicultura**, v.29, n.175, p.49-61, 2019.

PACHECO, R.S.; FERRO, P.H.S.; PEREIRA, M.O.; JESUS, G.F.A.; BORGES, Y.V.; JATOBÁ, A. Probiotic supplementation affects IGF-1 and leptin levels in Nile tilapia hepatopancreatic tissue. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.73, p.1217-1224, 2021.

PEIXE BR, Associação brasileira de Piscicultura. Anuário da Piscicultura. São Paulo, 2021.

PHILIPPART, J.C.; RUWET, J.C. Ecology and distribution of tilapias. In: The Biology and Culture of Tilapias. ICLARM Conference Proceedings, v.432, p.15-59, 1982.

PIEDRAHITA, R.H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. **Aquaculture**, v.226, p.35444, 2003.

RAULET, D.H. Interplay of natural killer cells and their receptors with the adaptive immune response. **Nature Immunology**, v. 5, n. 10, p. 996-1002, 2004.

REN, W. et al. Effects of C/N ratio and light on ammonia nitrogen uptake in *Litopenaeus vannamei* culture tanks. **Aquaculture**, v.498, p.123-131, 2019.

RODRIGUES, E. Ecologia da Restauração. Editora Planta: Londrina, p.300, 2013.

SUBRAMANIAN, S.; MACKINNON, S.L.; ROSS, N.W. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 148, n. 3, p. 256-263, 2007.

SCHULTER, E.P.; VIEIRA FILHO, J.E.R. Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia. Texto para discussão/Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada-Brasília. Ipea, Rio de Janeiro, 2017.

SHIVALKAR, S. Bioremediation: a potential ecological tool for waste management. In: KUMAR, V.; SAXENA, G.; SHAH, M.P. (ed.) **Bioremediation for environmental sustainability: approaches to tackle pollution for cleaner and greener society**. Amsterdam: Elsevier, p.1-21, 2020.

SILVA, F.V.; SARMENTO, N.L.D.A.F.; VIEIRA, J.S.; TESSITORE, A.J.D.A.; OLIVEIRA, L.L.D.S.; SARAIVA, E.P. Características morfológicas, rendimentos de carcaça, filé, vísceras e resíduos em tilápias-do-nylo em diferentes faixas de peso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1407-1412, 2009.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; LOURENÇO, E.M.; DE SOUZA BRAGA, F.M. Water quality in six sequentially disposed fishponds with continuous water flow. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, p.9-15, 2010.

SOFIA – State of the World Fisheries and Aquaculture, 2020.

SONIA, V.; RAJAGOPALSAMY, C.B.T.; AHILAN, B.; FRANCIS, T. Influence of bioremediation on the growth and survival of *Cyprinus carpio* var Koi using aquaculture wastewater. **Jr. of Industrial Pollution Control**, v.3(2), p.243-248, 2015.

SOUSA, V. Empreendendo Aquicultura: O aumento do consumo de pescado Empreendendo Aquicultura, 15 ago. 2019. Disponível em: <<https://empreendendoaquicultura.blogspot.com/2019/08/o-aumento-do-consumo-de-pescado.html>>. Acesso em: 05 dez. 2021.

STRAIN, P.M. **Eutrophication impacts of marine finfish aquaculture**. Canadian Science Advisory Secretariat. 41p, 2005.

STROMPFOVÁ, V. et al. Effect of *Bifidobacterium animalis* B/12 administration in healthy dogs. **Anaerobe**, v.28, p.37-43, 2014.

TALPUR, A.D.; IKHWANUDDIN, D.; ABDULLAH, D.D.M.; BOLONG, A.M. Indigenous *Lactobacillus plantarum* as probiotic for larviculture of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758): Effects on survival, digestive enzyme activities and water quality. **Aquaculture**, v.417, p.173-178, 2013.

THURLOW, C.M. *Bacillus velezensis* AP193 exerts probiotic effects in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and reduces aquaculture pond eutrophication. **Aquaculture**, v.503, p.347-356, 2019.

TREWAVAS, E. **Tilapiine fishes of the genera *Oreochromis*, *Sarotherodon* and *Danakilia***. British Museum of Natural History, London, 1983.

URBINATI, E.C.; ZANUZZO, F.S.; BILLER, J. D. Stress and immune system in fish. **Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish**. 1ed.: Academic Press - Elsevier, v. 1, p. 1-358, 2020.

URIBE, C.; FOLCH, H.; ENRÍQUEZ, R.; MORAN, G.J.V.M. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. **Veterinarni Medicina**, v. 56, n. 10, p. 486, 2011.

VERSCHUERE, G.; ROMBAUT, P.; SORGELOOS; VERSTRAETE, W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbio. Mol. Biol. Ver.**, v.64, p.655-671, 2000.

VICENTE, I.S.T.; ELIAS, F.; FONSECA-ALVES, C.E. Prospects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production in Brazil. **Revista de Ciências Agrárias**, v.37, n.4, 2014.

VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3ªed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/UFMG, 2005.

VINATEA ARANA, L. Fundamentos de aquicultura. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2004.

XU, H.; LIAO, Z.; ZHANG, Q.; WEI, Y.; LIANG, M. A moderately high level of dietary lipid inhibited the protein secretion function of liver in juvenile tiges puffer *Takifugu rubripes*. **Aquaculture**, v.498, p.17-27, 2019.

YUN-ZHANG, S.; HONG-LING, Y.; RU-LONG, M.; WEN-YAN, L. Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. **Fish & Shellfish Immunology**, v.29, n.5, p.803-809, 2010.

ZHAO, Y.; YANG, Q.E.; ZHOU, X.; WANG, F.H.; MUURINEN, J.; VIRTÁ, M.P.; ZHU, Y.G. Antibiotic resistome in the livestock and aquaculture industries: Status and solutions. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v.51, n.19, p.2159-2196, 2021.

ZHU, L.Y.; PAN, P.P.; FANG, W.; SHAO, J.Z.; XIANG, L.X. Essential Role of IL-4 and 966 IL-4Rα Interaction in Adaptive Immunity of Zebrafish: Insight into the Origin of 967 Th2-like Regulatory Mechanism in Ancient Vertebrates. *The Journal of Immunology*, 968 v. 188, n. 11, p. 5571-5584, 2012.

ZHU, B.; CHEN, S.; ZHAO, C.; ZHONG, W.; ZENG, R.; YANG, S. Effects of *Marichromatium gracile* YL28 on the nitrogen management in the aquaculture pond water. **Bioresource technology**, v.292, 2019.

CAPÍTULO 2 – Avaliação do efeito de um blend biotecnológico no desempenho produtivo, nas vilosidades intestinais e no sistema imune de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e na qualidade de água

RESUMO

Para atender as demandas mundiais, a aquicultura passou a empregar sistemas intensivos na criação de peixes, obtendo altos rendimentos e um bom retorno econômico. Apesar das inúmeras vantagens da intensificação, o rápido desenvolvimento tem revelado preocupações sobre os impactos da piscicultura ao ambiente, uma vez que a produção de resíduos desta atividade pode ser grande. Visando produções ambientalmente mais responsáveis, uma das opções que tem despertado interesse de muitos pesquisadores é o processo de biorremediação. Um método que tem sido considerado mais sustentável e ecologicamente correto no tratamento de resíduos orgânicos, pois não envolve nenhum uso de produto químico. O objetivo da pesquisa foi verificar o efeito de um blend biotecnológico no desempenho produtivo de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), nas vilosidades intestinais, no sistema imune e na qualidade de água de cultivo. O experimento foi inteiramente casualizado e consistiu em quatro tratamentos e cinco repetições, sendo: T1, grupo controle; T2: 100 mL/m³ do biorremediador por tanque, 2 vezes na semana; T3: 200 mL do biorremediador por quilograma de ração e T4: 100 mL/m³ do biorremediador por tanque, 2 vezes na semana e 200 mL do biorremediador por quilograma de ração. Durante 90 dias, 300 animais, com peso médio de $9,0 \pm 0,07$ g, por tanque receberam os tratamentos e as seguintes variáveis foram avaliadas: peso final, ganho de peso, taxa de crescimento específico, consumo e conversão alimentar aparente. Foram mensurados ainda, vilosidades intestinais e variáveis do sistema imune. Além disso, as variáveis físico-químicas da água: transparência, demanda bioquímica de oxigênio, concentração de amônia, nitrito e nitrato, concentração de oxigênio dissolvido e pH, também foram avaliadas. Nos tanques cujo processo de biorremediação foi aplicado na água, foram observados os maiores valores para peso final, taxa de crescimento específico, maior altura das vilosidades e consequente absorção dos nutrientes e menor teor de amônia, nitrito, nitrato e maiores concentrações de oxigênio dissolvido e menor valor para DBO ($p < 0,05$). Isso indica que a utilização desses microrganismos no processo de biorremediação tem potencial para ser uma prática que contribui para a melhoria da qualidade de água, gerando maior bem-estar aos peixes e garantindo o sucesso da criação.

Palavras-chave: biorremediação, crescimento, tilápia, compostos nitrogenados

CHAPTER 2 – Evaluation of the effect of a biotechnological blend on productive performance, intestinal villi and immune system of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles and water quality

ABSTRACT

To meet global demands, aquaculture began to employ intensive systems in fish farming, obtaining high yields and a good economic return. Despite the numerous advantages of intensification, rapid development has revealed concerns about the impacts of fish farming on the environment, since the production of waste from this activity can be large. Aiming at more environmentally responsible productions, one of the options that has aroused the interest of many researchers is the bioremediation process. A method that has been considered more sustainable and ecologically correct in the treatment of organic waste, as it does not involve any use of chemicals. The objective of the research was to verify the effect of a technological blend on the productive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles, on the intestinal villi, on the immune system and on the quality of cultured water. The experiment was completely randomized and consisted of four treatments and five replications, as follows: T1, control group; T2: 100 mL/m³ of bioremediator per tank, 2 times a week; T3: 200 mL of bioremediator per kilogram of feed and T4: 100 mL/m³ of bioremediator per tank, twice a week and 200 mL of bioremediator per kilogram of feed. For 90 days, 300 animals, with an average weight of 5.0 ± 0.07 g, per tank received the treatments and the following variables were evaluated: final weight, weight gain, specific growth rate, consumption and apparent feed conversion. Intestinal villi and immune system variables were also measured. In addition, the physicochemical variables of the water: transparency, biochemical oxygen demand, concentration of ammonia, nitrite and nitrate, dissolved oxygen concentration and pH, were also evaluated. In the tanks whose bioremediation process was applied to the water, the highest values were observed for final weight, specific growth rate, greater height of the villi and consequent absorption of nutrients and lower content of ammonia, nitrite, nitrate and higher concentrations of dissolved oxygen and lowest value for BOD ($p < 0.05$). This indicates that the use of these microorganisms in the bioremediation process has the potential to be a practice that contributes to the improvement of water quality, generating greater well-being for fish and ensuring the success of the creation.

Keywords: bioremediation, growth, tilapia, nitrogen compounds

1. INTRODUÇÃO

A piscicultura é considerada uma atividade produtora de uma proteína animal com altíssima qualidade nutricional, sendo um dos setores que mais cresceu nas últimas décadas no Brasil e no mundo (FAO, 2020). Apesar do crescimento acelerado, todo este potencial da atividade está atrelado a questões ambientais, uma vez que com o desenvolvimento da atividade, os impactos ambientais causados também tendem a crescer.

Uma grande preocupação com os sistemas aquícolas tradicionais está associada ao consumo e uso de água e à geração de efluentes (HU et al., 2015). Em vista disso, produzir organismos aquáticos adotando estratégias que tornem a produção mais sustentável ao meio ambiente é uma alternativa para que a atividade continue com seu crescimento exponencial (LISBÔA, 2019).

A aquicultura sustentável pode ser definida como aquela em que há uma interação harmoniosa entre os ecossistemas e comunidade local e, no caso da piscicultura, que inclui estratégias que visem à redução no consumo de água e tratamento dos resíduos gerados (VALENTI, 2002). É sabido que a qualidade de água, independentemente do cultivo, é de suma importância para a obtenção do sucesso da produção, no caso da piscicultura, ela é a principal matéria prima do processo, de tal modo que as características da água podem influenciar e afetar diretamente o desempenho dos animais (LEIRA et al., 2017).

Nos últimos anos surgiu um grande interesse no uso de bactérias benéficas para atuarem no processo de biorremediação na aquicultura. Devido a intensificação da atividade, além da grande preocupação com os resíduos produzidos e seus impactos ao meio ambiente, a piora na qualidade de água afeta também o desempenho dos animais e, conseqüentemente, o sucesso de criação (JASMIN et al., 2020). Vários estudos relatam os benefícios em utilizar microrganismos como as bactérias do gênero *Lactobacillus* e leveduras na aquicultura (WANG, 2016; CARNEVALI et al. 2006; WANG; XU, 2006).

No Brasil, os estudos sobre qualidade da água vêm crescendo lentamente se comparados aos trabalhos desenvolvidos acerca da nutrição, reprodução, genética e patologia de peixes. O acompanhamento dos parâmetros físico-químicos de viveiros voltados à produção de organismos aquáticos pode contribuir para a manutenção de níveis adequados de qualidade da água, impedir eventuais problemas produtivos e ainda, melhorar a sustentabilidade.

Portanto, nosso estudo investigou os efeitos de um biorremediador no desempenho produtivo, nas vilosidades intestinais e no sistema imune de juvenis de tilápia-do-Nilo e nos parâmetros físico-químicos da água de cultivo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Instalações e condições experimentais

O estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o Protocolo 605/22, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal (FCAV-UNESP).

O experimento foi realizado no Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), campus de Jaboticabal e ocorreu no período entre os meses de junho à setembro de 2022. De acordo com a Estação Agroclimatológica da FCAV-UNESP, no período em que o experimento foi conduzido, a umidade relativa (UR) foi de 58,96%, a Temperatura máxima foi de 28,1 °C e a Temperatura mínima de 12,9 °C.

Foram utilizados 20 tanques circulares com fundo de concreto (2000 L) alocados em ambiente externo sujeito ao fotoperíodo natural e variações climatológicas, e abastecidos continuamente com água proveniente de poço artesiano. Em cada um dos tanques foi instalado difusores de ar para aeração individual e tampas com telas para proteção contra predadores naturais.

Os peixes foram fornecidos pela Piscicultura Aquabel Ltda, localizada no município de Porto Ferreira-SP e transportados até o Laboratório de Tilapicultura do CAUNESP. Os juvenis de tilápia-do-Nilo já masculinizados, com peso médio de $5,0 \pm 0,07$ g foram distribuídos na densidade de 300 animais/tanque.

Os animais foram submetidos a um período de aclimação às condições experimentais durante 30 dias e alimentados com ração comercial, indicada para a espécie, contendo 36% PB e granulometria de 2,6 mm (Laguna Alevinos, Socil, Neovia Ltda, Descalvado, SP, Brasil), duas vezes ao dia (9:30 e 15:30), até a saciedade aparente. A ração comercial apresentou os seguintes níveis de garantia: 12,0% (max) de umidade, 36,0% (mín) de proteína bruta, 7,0% (mín)

de extrato etéreo; 5,0% (máx) de fibra bruta; 14,0% (máx) de matéria mineral; 10,0% (mín) e 25,0% (máx) de cálcio e (máx) e 0,8% (mín) de fósforo.

2.2 Delineamento experimental

O experimento foi realizado seguindo um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos (Figura 2) e 5 repetições, totalizando 20 unidades experimentais. Cada tanque foi considerado como uma unidade experimental e o valor médio de cada unidade foi utilizado para as análises estatísticas.

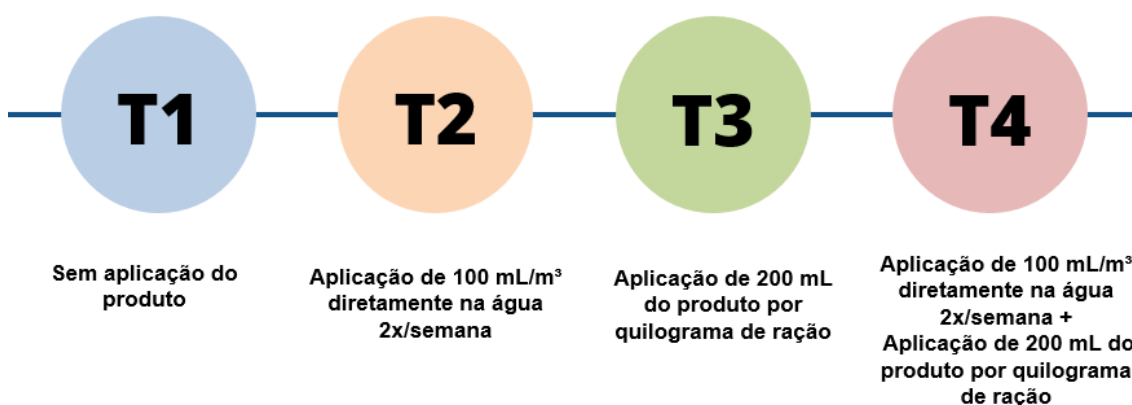


Figura 2. Apresentação dos tratamentos experimentais. Fonte: elaborado pela autora.

O blend biotecnológico, identificado pelo código CPMO-02.01.01/03.01.02.2022, corresponde a um produto produzido pela Korin Agricultura e Meio Ambiente. Com o intuito de proporcionar um crescimento exponencial mais rápido dos microrganismos este blend é misturado a um outro produto comercial (Hibana, Korin Agricultura e Meio Ambiente) composto por frutooligossacarídeos (FOS) e mananoligossacarídeos (MOS) na proporção de 60 g do Hibana, para 400 mL do blend biotecnológico e 3.600 mL de água não clorada. Para estimular o desenvolvimento dos microrganismos, a solução foi homogeneizada e o recipiente fechado não hermeticamente por um período de três dias.

O produto foi aplicado duas vezes na semana nos tanques dos tratamentos que receberam o produto diretamente na água. Nos peletes de ração o produto foi aplicado uma hora antes da alimentação, com o auxílio de um borrifador. Diariamente, todos os potes de ração foram pesados para controle da ingestão de alimento.

2.3 Variáveis avaliadas

2.3.1 Parâmetros físico-químicos da água

Para monitorar a qualidade da água do sistema em função dos tratamentos foram aferidos diariamente por meio de aparelho digital (YSI - Pro ODO, Yellow Springs Instrument, Ohio, USA): temperatura, potencial hidrogeniônico e concentração de oxigênio dissolvido. A transparência da água, foi mensurada diariamente com o Disco de Secchi, disco plástico com 30 cm de diâmetro preso à uma fita com graduação a cada 0,5 cm para aferir a profundidade visível e o resultado expresso em cm.

Foram realizadas semanalmente coletas de amostra das águas para avaliação dos níveis de compostos nitrogenados (amônia, nitrito e nitrato). Essas análises foram realizadas no Laboratório Multiusuários do CAUNESP. Para quantificar o teor de amônia total presente na água as análises foram realizadas segundo metodologia descrita por Koroleff (1976) utilizando espectrofotômetro de absorção visível e leitura em densidade ótica de 630 nm. A quantificação do teor de nitrito foi mensurada seguindo um método colorimétrico proposta por Golterman (1978) e a leitura realizada em absorbância de 543 nm. O teor de nitrato foi quantificado através da redução à nitrito com o acréscimo de cádmio amalgado e a leitura feita em densidade ótica de 543 nm, seguindo a metodologia adaptada por Golterman (1978). Os resultados para todos os parâmetros mencionados foram expressos em microgramas por litro ($\mu\text{g/L}$).

Para as análises da demanda bioquímica de oxigênio (DBO), as amostras foram preparadas em garrafas específicas, e posteriormente incubadas por 5 dias à 20 °C na ausência de luz. O ensaio para determinação da DBO foi realizado no Laboratório Limnologia do CAUNESP e os procedimentos utilizados foram baseados na metodologia de Boyd e Tucker (1992). De acordo com esta metodologia, duas amostras por tanque foram preparadas. Em uma primeira amostra (DBO inicial) foi adicionado KI, MnSO_4 , H_2O (fixadores de oxigênio), ácido sulfúrico, amido (indicador) e em seguida procedeu-se a titulação contra uma solução tiosulfato padronizado. Na outra amostra (DBO_5) foi adicionada água de diluição e incubada durante cinco dias a uma temperatura constante de 20 °C. Encerrado o tempo de incubação, repetiu-se o processo de titulação que foi utilizado para determinação da DBO inicial. Por fim, o resultado da DBO para cada ponto foi definido pela diferença entre a

DBO final e DBO₅. Além disso, para o cálculo dessa variável, a condutividade elétrica da água dos tanques foi aferida semanalmente, por meio de sonda multiparâmetros (modelo U-52, Horiba™, Kyoto, Japan).

2.3.2 Desempenho produtivo

Com a finalidade de comparar o desempenho produtivo da tilápia-do-Nilo, foram realizadas biometrias no início e após os 90 dias experimentais, sendo pesados todos os indivíduos de cada tanque. Nas biometrias, os animais foram anestesiados com solução de benzocaína (benzocaine, Sigma Aldrich, EUA), na concentração de 0,1 g/L, pesados com uma balança analítica de precisão (modelo S2202H, Bel Engineering Laboratories, Italy) e medidos individualmente com ictiômetro. Com os dados biométricos foram determinadas as seguintes variáveis de desempenho produtivo:

- i. Peso final (PF);
- ii. Ganho de peso (GP): calculado pela diferença entre peso corporal ao final do experimento e peso no início do experimento;
- iii. Taxa de crescimento específico (TCE): calculada pela fórmula de Legendre e Kerdchuen (1995), onde $TCE = [(\log \text{ peso final} - \log \text{ peso inicial}) / \text{duração em dias do experimento}] * 100$;
- iv. Consumo de alimento (g): quantidade de alimento ingerido durante todo o período;
- v. Conversão alimentar aparente (CAA): quantidade de alimento ingerido dividido pelo ganho de peso.

2.3.3 Vilosidades intestinais

Na biometria final, três peixes de cada tanque foram submetidos a retirada de um fragmento (2 cm) da porção anterior do intestino, para avaliação das características morfológicas do órgão. Foram mensuradas: altura da vilosidade (AV); altura do enterócito (AE) e túnica muscular (MUC). As amostras fixadas em uma solução fixadora (formaldeído puro, etanol 95%, ácido acético e água destilada), foram incluídas em parafina, seccionadas em micrótomo (3 µm de espessura) e coradas com hematoxilina-eosina (H&E) (HUMASON, 1972). A análise das estruturas morfológicas foi realizada com auxílio de fotomicroscópio Leica® DM2500 (Leica Microsystems, Germany), equipado com câmera Leica®

DFC295 (Leica Microsystems, Germany), e analisador de imagens Leica Application Suite – LAS (Leica Microsystems, Germany).

2.3.4 Variáveis hematológicas

No sangue total heparinizado de três peixes/tanque, foram determinados o hematócrito e número de eritrócitos. Na determinação do hematócrito, as amostras de sangue homogeneizadas foram introduzidas em capilares para microhematócrito para determinação do hematócrito. Os capilares foram centrifugados por 5 minutos a $10.000 \times g$ em centrífuga de microhematócrito e a avaliação foi feita com o auxílio da tabela de microhematócrito.

Para a contagem do número de eritrócitos, alíquotas de sangue de cada animal foram coletadas e diluídas em tampão formol citrato na contração de 1:200. Após a homogeneização da solução a contagem foi feita em câmara de Neubauer.

2.3.5 Indicadores do sistema imune inato

Como indicadores do sistema imune inato foram avaliadas a atividade respiratória de leucócitos e atividade hemolítica do complemento a partir das amostras de sangue coletadas na biometria final. Para análise da atividade respiratória de leucócitos foi seguido o protocolo de Biller et al. (2013). O método consiste na determinação das espécies reativas de oxigênio (ERO) produzidas pelo “burst” oxidativo por ensaio colorimétrico baseado na redução do corante “nitroblue tetrazolium” (NBT) que formam precipitados de material insolúvel com coloração azul escuro no interior do fagócito, denominados grânulos de formazan (KLEIN, 1990). A densidade óptica da solução foi determinada em espectrofotômetro em comprimento de onda de 540 nm.

A atividade hemolítica do sistema complemento foi determinada de acordo com a metodologia modificada, proposta por Zanuzzo et al. (2015). O ensaio cinético determina o tempo (em segundos) necessário para as proteínas das amostras lisarem 50% de uma suspensão de eritrócitos de coelho. Amostras de sangue de coelho foram colhidas por punção venosa com seringas contendo anticoagulante Alséver (pH 6,1), e a elas acrescentados 10 mL de trietanolamina – TEA, gelatina 0,1% e ácido etileno diamino tetracético (EDTA 0,1 M pH 7,4). A mistura foi incubada por 15 minutos em banho maria a 37 °C e centrifugada por

10 minutos a 2000 rpm por três vezes. O sobrenadante foi descartado e as hemácias ressuspensas em TEA – Mg^{2+} . Amostras da suspensão foram diluídas em tampão TEA – EGTA / Mg^{2+} /gelatina 0,1%. Em cubeta de 1 mL foram pipetados 75 μ L de amostra, 125 de tampão TEA – EGTA / Mg^{2+} /gelatina 0,1% e 400 μ L da suspensão de hemácias. As leituras foram realizadas a cada 20 segundos, durante 20 minutos a 700 nm, em espectrofotômetro Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis. Assim, o tempo da ativação das proteínas do sistema complemento representa o tempo necessário para lisar os eritrócitos de coelho.

A determinação da atividade de lisozima foi baseada no método clássico de causar lise em uma suspensão de *Micrococcus lysodeikticus* e medida por meio da redução da densidade óptica verificada durante a lise da parede celular da bactéria (SMOLELIS e HARTSELL, 1949). A análise foi realizada por ensaio turbidimético, segundo Parry, Chandan e Shahani (1965) com adaptações. A partir da curva padrão determinada utilizando lisozima liofilizada de clara de ovo de galinha, foram quantificadas as concentrações de lisozima nas diversas amostras utilizando a equação da reta. Após a determinação de curva de calibração, todas as amostras de soro passaram por tratamento térmico (banho-maria à 56 °C por 30 min) para inativação das proteínas do sistema complemento, garantindo, assim, que a lise do *M. lysodeikticus* fosse provocada exclusivamente por ação da lisozima.

Assim, 50 μ L soro (em triplicata) foram depositados em microplacas de acrílico estéreis de 96 cavidades, em 50 μ L de tampão fosfato de sódio (0,05 M, pH 6,2). Depois de homogeneizados, o soro foi submetido a diluições sucessivas com razão constante igual a 2, mantendo um volume final de 50 μ L por cavidade. Em cada cavidade foi depositado 125 μ L de suspensão de *M. lysodeikticus* (0,2% em tampão fosfato de sódio). A redução da densidade óptica, em 450 nm, foi avaliada entre 0,5 e 5,0 minutos à 30 °C. Os resultados em concentração (μ g mL⁻¹ de amostra) foram obtidos a partir da redução da δ DO para cada volume de amostra avaliada, e os resultados em unidade de atividade (U/mL) foram determinados como a quantidade de enzima que produziu, em 450 nm, um δ DO de 0,001/min (WON, KIM e PARK, 2004).

2.3 Análise dos resultados

Os dados foram verificados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste de Bartlett) das variâncias. Posteriormente, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Duncan para identificar diferenças entre as médias. Os efeitos dos tratamentos foram considerados significativos em $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas por meio do pacote de software Statistical Analysis Systems versão 1.2 do Rstudio Team (Rstudio, Inc., Boston, MA, 2018).

3. RESULTADOS

As variáveis físico-químicas da água mostraram que, com exceção do pH, nas demais variáveis foram observados efeitos significativos da biorremediação, como apresentado na Tabela 1. Conforme pode ser observado, a análise de variância (ANOVA), realizada com os dados de desempenho produtivo dos peixes, resultou em valores de p significativos ao nível de 5% em todas as variáveis avaliadas, com exceção do pH.

Os valores de transparência da água variaram de 28,0 a 73,5 cm, sendo grupos T1 e T2, respectivamente. A aplicação do produto diretamente na água (T2) resultou em menor valor para a variável de DBO ($17,8 \text{ mg L}^{-1}$) e no grupo controle o pior valor ($49,3 \text{ mg L}^{-1}$). Quanto aos compostos nitrogenados, os melhores valores para teores de amônia, nitrito e nitrato foram obtidos nos tanques que receberam o bioremediador diretamente na água (T2). Além disso, observa-se que no grupo controle, o acúmulo desses compostos foi muito maior, o que contribuiu para uma piora na qualidade de água. O pH da água variou entre 9,45 e 9,55 durante todo o período experimental e não diferiu ($p > 0,05$) entre os tratamentos avaliados. As condições de oxigenação estão diretamente relacionadas à transparência e à carga de matéria orgânica.

Tabela 1. Valores médios, desvio padrão e valores de P dos parâmetros de qualidade de água do sistema de piscicultura tratado com o blend biotecnológico.

VARIÁVEL	TRATAMENTO				valor de P
	1	2	3	4	
Transp, cm	28,0 ± 11,0 c	73,5 ± 9,4 a	38,7 ± 2,8 c	51,0 ± 3,1 b	0,0000
DBO, mg/L	49,3 ± 4,0 d	17,8 ± 3,0 a	38,6 ± 2,2 c	31,6 ± 1,7 b	0,0000
Nitrito, µg/L	6,4 ± 1,8 c	2,1 ± 0,4 a	4,6 ± 0,6 b	3,7 ± 1,1 ab	0,0012
Nitrato, µg/L	16,4 ± 0,5 c	11,2 ± 0,7 a	12,3 ± 1,2 ab	13,6 ± 1,5 b	0,0001
Amônia, µg/L	68,6 ± 7,6 b	42,0 ± 4,1 a	64,8 ± 11,1 b	51,9 ± 5,2 a	0,0011
pH	9,5 ± 0,9	9,4 ± 0,1	9,5 ± 0,3	9,5 ± 0,1	0,8524
OD, mg/L	4,9 ± 0,4 d	10,9 ± 0,6 a	7,1 ± 0,7 c	8,9 ± 0,7 b	0,0000

Transp = Transparência aferida com Disco de Secchi; DBO = Demanda Bioquímica de Oxigênio; pH = potencial hidrogeniônico; OD = Concentração de oxigênio dissolvido. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Duncan. 1 - Grupo Controle (sem aplicação do produto); 2 - Tratamento com aplicação do produto diretamente na água; 3 - Tratamento com aplicação do produto pulverizado na ração; 4 - Tratamento com aplicação do produto diretamente na água e na ração.

Durante o experimento os animais se mostraram aclimatados às condições experimentais e aceitaram bem os tratamentos fornecidos. Os resultados de desempenho produtivo para os juvenis de tilápia-do-Nilo estão presentes na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios, desvio padrão e valores de P de desempenho zootécnico de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) tratados com o blend biotecnológico.

VARIÁVEL	TRATAMENTO				P valor
	1	2	3	4	
PF, g	42,5 ± 7,5 c	66,7 ± 6,6 a	53,8 ± 4,6 bc	59,0 ± 9,9 ab	0,0043
GP, g	33,1 ± 5,4 c	56,4 ± 6,2 a	43,0 ± 4,9 bc	47,6 ± 8,9 ab	0,0023
TCE, %	3,7 ± 0,2 b	4,2 ± 0,1 a	3,9 ± 0,1 a	4,0 ± 0,2 a	0,0033
CRT, g/peixe	11,8 ± 3,3 b	23,4 ± 2,2 a	23,8 ± 1,6 a	23,9 ± 3,7 a	0,0001
CAA	1,09 ± 0,11 a	0,77 ± 0,05 b	1,18 ± 0,14 a	1,03 ± 0,16 ab	0,0030

PF = Peso final; GP = Ganho de peso; TCE = Taxa de crescimento específico; CRT = Consumo de ração total; CAA = Conversão alimentar aparente. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Duncan. 1 - Grupo Controle (sem aplicação do produto); 2 - Tratamento com aplicação do produto diretamente na água; 3 - Tratamento com aplicação do produto pulverizado na ração; 4 - Tratamento com aplicação do produto diretamente na água e na ração.

Pode-se observar maiores valores para peso final (PF) nos animais que receberam o produto diretamente na água de cultivo (T2) quando comparados ao grupo controle (T1). O grupo dos animais que receberam o blend na água e na ração (T4) também apresentou valores superiores para PF quando comparados ao grupo controle. Consequentemente, os animais desses dois grupos (T2 e T4) foram os que apresentaram maior ganho de peso (GP) no fim

do período experimental, com valores entre 56,43 e 47,60 g. Contudo, os peixes que receberam o produto somente via ração apresentaram resultados inferiores no PF e GP. Quanto a taxa de crescimento específico (TCE), os melhores valores ficaram entre 3,98 e 4,19%, sendo representados pelos animais que receberam o produto, tanto diretamente na água quanto na ração ou por ambas as vias de administração (T2, T3 e T4).

Os valores de consumo total de ração (CRT) dos grupos que receberam o produto, sejam na água, na ração ou em ambos, ficaram entre 23,4 e 23,9 g/peixe, superiores ($p < 0,05$) ao grupo controle (T1), sugerindo que o produto pode proporcionar maior palatabilidade quando utilizado na ração. A conversão alimentar aparente (CAA) aparentou não diferenciar em virtude dos tratamentos utilizados.

Nas análises morfológicas foram observadas diferenças significativas na altura das vilosidades dos junis de tilápia-do-Nilo quando utilizado o blend biotecnológico, como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3. Valores médios, desvio padrão e valores de P de vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) tratados com o blend biotecnológico.

VARIÁVEL	TRATAMENTO				Valor de P
	1	2	3	4	
AV, μm	70,1 $\pm$ 7,1 b	113,6 $\pm$ 4,8 a	102,9 $\pm$ 15,3 a	100,0 $\pm$ 14,0 a	0,0080
AE, μm	13,0 $\pm$ 1,0	16,3 $\pm$ 1,9	15,7 $\pm$ 2,0	12,8 $\pm$ 1,8	0,0800
MUC, μm	12,2 $\pm$ 3,9	12,6 $\pm$ 1,9	11,6 $\pm$ 0,4	12,3 $\pm$ 1,0	0,9570

AV = Altura da vilosidade; AE = Altura do enterócito; MUC = Túnica Muscular. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Duncan. 1 - Grupo Controle (sem aplicação do produto); 2 - Tratamento com aplicação do produto diretamente na água; 3 - Tratamento com aplicação do produto pulverizado na ração; 4 - Tratamento com aplicação do produto diretamente na água e na ração.

Os peixes que receberam o blend biotecnológico (T2, T3 e T4) apresentaram maiores valores para altura das vilosidades (AV) quando comparados ao grupo controle (T1). O aumento da altura das vilosidades pode ser compreendido como uma melhora na integridade da mucosa, favorecendo o desempenho zootécnico desses animais. O maior valor de altura da vilosidade pertence ao grupo T2 com 113,69 μm , enquanto o T1 apresentou um valor de 70,10 μm . Os maiores valores brutos para altura do enterócito correspondem a 16,37 μm (T2) contra 13,01 μm (T1) mas sem diferenças significativas.

A inclusão do blend biotecnológico não apresentou efeito sobre as variáveis hematológicas que foram avaliadas, com exceção da contagem total de glóbulos vermelhos (RBC). Nas variáveis relacionadas ao sistema imune inato, o sistema complemento e atividade da lisozima foram alteradas em função do tratamento recebido, de acordo com os valores apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores médios, desvio padrão e valores de P do sistema imune de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) tratados com o blend biotecnológico.

VARIÁVEL	TRATAMENTO				Valor de P
	1	2	3	4	
HB, g/dL	7,9 ± 2,6	8,7 ± 2,6	7,9 ± 1,4	9,1 ± 1,9	0,8161
HTC, %	40,3 ± 4,1	42,8 ± 9,2	41,2 ± 7,5	38,7 ± 5,9	0,8689
RBC (x10 ⁶)	4,4 ± 0,2 a	3,2 ± 0,0 b	4,1 ± 0,0 a	3,4 ± 0,20 b	0,0001
Burst	0,4 ± 0,04	0,4 ± 0,02	0,4 ± 0,05	0,4 ± 0,07	0,9970
Compl., seg	460,0 ± 8,6 b	352,9 ± 2,2 a	277,9 ± 3,5 a	276,3 ± 3,7 a	0,0036
Lisoz., U/mL	3,7 ± 0,2 b	4,2 ± 0,1 a	3,9 ± 0,1 a	4,0 ± 0,2 a	0,0033

HB = Hemoglobina; HTC = Hematócrito; RBC= Número de glóbulos vermelhos; Burst = Atividade Respiratório dos Leucócitos; Compl. = Atividade hemolítica do sistema complemento; Lisoz. = Atividade da lisozima sérica. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Duncan. 1 - Grupo Controle (sem aplicação do produto); 2 - Tratamento com aplicação do produto diretamente na água; 3 - Tratamento com aplicação do produto pulverizado na ração; 4 - Tratamento com aplicação do produto diretamente na água e na ração.

Nas variáveis de hemoglobina, hematócrito e atividade respiratória de leucócitos não foram observadas diferenças ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados. No número de glóbulos vermelhos, os maiores valores observados foram de 4,4 e 4,1 x 10⁶, pertencentes aos peixes dos grupos T1 e T3. Por outro lado, os peixes dos grupos T2, T3 e T4 exibiram a menor atividade do sistema complemento e uma maior a atividade de lisozima quando comparados ao grupo controle (T1).

4. DISCUSSÃO

Sabe-se que a qualidade de água influencia diretamente no desempenho produtivo dos animais (MARINHO-SORIANO et al., 2011). No entanto, com a intensificação da aquicultura a quantidade de resíduos aumentou significativamente, aumentando a velocidade de deterioração da qualidade de água, assim como os teores de compostos nitrogenados, como amônia, nitrito e nitrato (ZHU et al., 2019; ANTHONY e PHILIP, 2006). Esses compostos

representam uma ameaça aos animais e plantas aquáticos quando presentes em altas concentrações, pois levam à eutrofização e até a mortalidade (LANANAN et al., 2014).

Partindo dessa premissa, o processo de biorremediação utilizado na pesquisa melhorou as condições de qualidade de água quando comparadas ao grupo controle e, provavelmente, ocasionou o melhor desempenho produtivo. Os dados da DBO e de transparência confirmam a hipótese de que a biorremediação atua diminuindo a carga orgânica, visto que no tratamento no qual o produto foi aplicado diretamente na água (T2) foram observados melhores valores.

Como o acúmulo de amônia ocorre devido as sobras de alimento e excreções metabólicas e as bactérias oxidantes desempenham um papel fundamental na oxidação da amônia em nitrito (ANTHONY e PHILIP, 2006), o biorremediador ocasionou um efeito positivo nos teores de amônia, principalmente nos tanques que recebiam o tratamento direto na água (T2). Esse tratamento apresentou o menor valor de amônia (42,01 µg/L), muito abaixo dos níveis prejudiciais para a espécie, como relatado por Kubtiza (2003), demonstrando ser o mais vantajoso.

O uso de bactérias capazes de reduzir a amônia começou em 1991, quando um consórcio de *Bacillus* foi incorporado em águas de cultivo para peixes e provou ser capaz de reduzir os teores de amônia (PORUBCAN et al., 1991). Ghosh et al. (2007) relataram que após introduzir *Bacillus* na água de criação de peixes ornamentais, observaram uma redução de 93% da redução total de amônia.

Além de tóxica, a sobrecarga de amônia resulta em diminuição do consumo de oxigênio pelo tecido e a atividade enzimática metabólica é afetada (YUSSOF et al., 2011). Nota-se ainda, que o biorremediador proporcionou maiores concentrações de oxigênio dissolvido. Sabe-se que, condições de baixo OD prejudicam o desempenho da bactéria do gênero *Nitrobacter*, favorecendo o acúmulo de nitrito na água, corroborando os dados encontrados na pesquisa.

O nitrito é uma forma de transição da amônia e uma vez que ele também pode ser considerado tóxico e causar grandes prejuízos, precisa ser removido ou convertido em nitrato, uma forma mais segura de nitrogênio (JASMIN et al., 2020). O nitrito é muito instável e níveis acima de 500 µg/L o tornam ainda mais

tóxico, interferindo na capacidade de transportar oxigênio e levando os animais a uma condição de anemia (ALCARRAZ e ESPINA, 1995). Presume-se que os microrganismos presentes no biorremediador beneficiaram a redução dos compostos nitrogenados a partir do estímulo à nitrificação e sua ação no processo de desnitrificação, o que foi evidenciado em todos os parâmetros físico-químicos da água.

Como esperado, a adição das bactérias do gênero *Bacillus* influenciaram no processo de desnitrificação, ou seja, converteram o nitrato até a reação final, convertendo-o em gás nitrogênio. Esse resultado está evidenciado nos valores obtidos das concentrações de nitrato e nitrito, especialmente do tratamento que recebeu o produto diretamente na água (T2).

De acordo com Bratvold et al. (1997), uma biorremediação bem-sucedida é aquela cuja taxas de nitrificação sejam capazes de não prejudicar o comportamento normal dos animais, manter a concentração de amônia baixa e maximizar a mineralização de carbono para CO₂. Os resultados do presente experimento confirmam a ideia dos autores, uma vez que os tanques que receberam blend tecnológico apresentaram, em geral, melhores índices de desempenho produtivo e melhores parâmetros físico-químicos da água.

A aplicação de bactérias probióticas por meio da ração ou diretamente na água é considerado benéfico à saúde e desempenho animal (DASH et al., 2019). Vários estudos relatam que as bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Lactobacillus* são eficazes em promover o crescimento e sobrevivência do hospedeiro (ISOLAURI et al., 2001; DASH et al., 2018; GOMEZ-GIL et al., 2000). No presente estudo, os animais expostos à biorremediação direta na água ou os que receberam via ração apresentaram maiores resultados nos parâmetros de PF, GP, CRT e TCE quando comparados ao grupo controle. Isto pode ser justificado porque as bactérias do gênero *Bacillus* são conhecidas por produzirem enzimas de digestão de nutrientes que permitem melhorar a atividade digestiva (DASH et al., 2019; ZIAEI-NEJAD et al., 2006).

A utilização do *Bacillus amyloliquefaciens* 54A e *Bacillus pumilus* 47B no processo de biorremediação resultou em maior taxa de crescimento específico em bagres listrados (*Pangasianodon hypophthalmus*) (THY et al., 2017). Além disso, a adição de tais bactérias melhorou o ganho de peso e conversão alimentar dos animais (YUNIASARI e EKASARI, 2010; YUSUF et al., 2015).

Semelhante ao encontrado neste estudo com as tilápias-do-Nilo, Sartik et al. (2012) relataram que a adição de *Bacillus* spp. com melaço aumentou o crescimento da carpa comum (*Cyprinus carpio*) e melhorou a qualidade da água, mais especificamente, reduzindo a concentração de amônia, nitrito e nitrato. Da mesma forma, um melhor desempenho produtivo, melhor crescimento e taxa de conversão alimentar foram observados em bagres africanos (*Clarias gariepinus*) quando criados em sistemas de bioflocos contendo *Bacillus* (HAPSARI, 2016). Combinar as bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Lactobacillus* é uma ótima ferramenta para melhorar o crescimento de peixes (DASH et al., 2019; BANERJEE et al., 2017). Adiciona-se a isto, a capacidade de algumas bactérias do gênero *Bacillus* em remover nitrogênio em um sistema de aquicultura (BANERJEE et al., 2017).

O uso de bactérias *Bacillus* spp. promoveu melhores taxas de crescimento e melhorou a qualidade de água em camarões rosa (*Penaeus monodon*), diminuindo também a presença de organismos patogênicos, como os vibrios (DALMIN et al., 2001). Um produto composto por *Bacillus subtilis* na ração promoveu melhora significativa na taxa de crescimento específico (TCE) em tilápias (HAROUN et al., 2006). Assim como no trabalho proposto, os valores de TCE são um indicativo quantitativo que relaciona o bem-estar do peixe e sua capacidade de desenvolver todo seu potencial de crescimento.

Sabe-se que no intestino dos peixes existem os vilos intestinais ou vilosidades que são constituídos pelos enterócitos, células caliciformes e enteroendócrinas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013; BOLELI et al., 2002). Conhecer a mucosa intestinal fortalece os estudos relacionados à nutrição, pois estão diretamente ligados com a capacidade de absorção de nutrientes e, consequentemente, no ganho de peso dos animais (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2012; CECHIM, 2013; BOLELI et al., 2012). A aplicação do blend biotecnológico proporcionou um aumento aparente das vilosidades, tanto nos tratamentos que o recebiam diretamente via água ou através da ração. Isto pode estar relacionado as melhores CAA observadas nos grupos de animais que receberam o produto via ração, reforçando a ação probiótica dos microrganismos no presente estudo.

A *Saccharomyces cerevisiae*, por exemplo, é capaz de se aderir aos sítios de ligação nos enterócitos e reduzir a colonização de bactérias

indesejáveis (FURLAN, 2005). Hisano et al. (2006), também encontraram um aumento de tamanho das vilosidades e consequente aumento de peso em tilápias-do-Nilo quando adicionaram a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Melo et al. (2013) alimentaram tilápias-do-Nilo com bactérias do gênero *Bacillus* e encontraram, ao fim do período experimental, aumento na altura e largura das vilosidades intestinais, o que levou ao aumento da área de superfície aparente dessas vilosidades, concordando com os resultados desse trabalho.

Os resultados deste trabalho demonstraram que no final do período experimental, todos os animais que receberam o blend tecnológico apresentaram, de maneira geral, um desempenho produtivo melhor do que o grupo controle. Deve-se ressaltar que o tratamento cuja aplicação foi diretamente na água (T2), pode ter viabilizado uma sinergia mais benéfica entre os microrganismos presentes, sendo o grupo de animais que apresentaram maior peso final, maior ganho de ganho, taxa de crescimento específico e maior área de superfície aparente das vilosidades intestinais.

Avaliar os parâmetros hematológicos é uma interessante ferramenta para monitorar o estado fisiológico dos peixes (MOHAPATRA et al., 2012). Muitos autores encontraram em seus estudos que a inclusão de microrganismos, como os *Bacillus* pode causar alterações nesses parâmetros em tilápias-do-Nilo (TELLI et al., 2014; KUMAR et al., 2008; SOLTAN e EL-LAITHY, 2008). Semelhantemente aos resultados obtidos no estudo, Wang et al. (2017) observaram melhora no estado imunológico em tilápias-do-Nilo tratadas com bactérias do gênero *Bacillus*.

Cerozi (2012) também não registrou efeitos significativos ao incorporar bactérias dos gêneros *Bacillus* sobre a atividade respiratória dos leucócitos (“Burst”) no sangue de pacus (*Piaractus mesopotamicus*). A aplicação de bactérias do gênero *Bacillus* aumentou significativamente os valores de “Burst” em juvenis de rohu (KUMAR et al., 2008).

No presente estudo, a aplicação do blend biotecnológico modulou o sistema imune dos juvenis de tilápia-do-Nilo, como observado nos valores da atividade hemolítica do complemento. Isto é, os menos valores, em segundos, foram obtidos nos grupos que receberam o blend tecnológico e indicam o tempo necessário para lisarem 50% de uma suspensão de eritrócitos de coelho.

Conhecida por degradar a camada de peptidoglicano da parede celular de bactérias, a lisozima é utilizada como indicador de respostas imunes inatas (TORT et al., 2003). Para a atividade da lisozima, maiores valores demonstram maior defesa frente a um desafio. Em juvenis de “olive flounder” *Paralichthys olivaceus* não foi observado aumento na atividade da lisozima sérica quando se aplicou uma mistura de microrganismos (*Lactobacillus spp.*, *Bacillus spp.* e *Saccharomyces cerevisiae*). No presente trabalho, os maiores valores para a atividade da lisozima sérica foram observados nos grupos de juvenis de tilápia que receberam o blend biotecnológico e alguns autores sugerem que os valores mais elevados dessa enzima proporcionam uma resistência a doenças nos peixes (PAULSEN et al., 2003).

No presente trabalho, foi possível observar que o emprego do blend biotecnológico proporcionou melhores resultados gerais para desempenho zootécnico e qualidade de água. Ainda, aumentou a altura das vilosidades e modulou o sistema imune dos peixes. Por fim, a utilização de tecnologias baseadas em um consórcio bactérias tenderá ser a mais eficiente e ambientalmente mais responsável em produções intensivas, proporcionando as condições adequadas para a fase desejada.

5. CONCLUSÃO

A utilização do blend biotecnológico melhorou os parâmetros de qualidade de água e, com isso, foi capaz de incrementar o desempenho produtivo, aumentar as vilosidades intestinais e modular o sistema imune inato da tilápia-do-Nilo.

6. REFERÊNCIAS

- ALCARAZ, G.; ESPINA, S. Acute toxicity of nitrite in juvenile grass carp modified by weight and temperature. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v.55, n.3, p.473-478, 1995.
- ANTONY, S.P.; PHILIP, R. Biomediation in shrimp culture system. NAGA, **WorldFish Center Quarterly**, v.29, n.3-4, 2006.
- BANERJEE, G.; RAY, A.K. Bacterial symbiosis in the fish gut and its role in health and metabolism. **Symbiosis**, v.72, n.1, p.1-11, 2017.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn, USA. p.183, 1992.

BRATVOLD, D.; BROWDY, C.L.; HOPKINS, J.S. Microbial ecology of shrimp ponds: toward zero discharge. **World Aquaculture**, 1997.

BOLELI I. C.; MAIORKA A.; MACARI M. Estrutura funcional do trato digestório. In: Macari M.; Furlan RL.; Gonzales E. editores. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal, Funep, 75-96, 2002.

CARNEVALI, O.; CIONNA, C.; TOSTI, L.; LUBZENS, E.; MARADONNA, F. Role of cathepsins in ovarian follicle growth and maturation. **General and Comparative Endocrinology**, v.146, p.195–203, 2006.

CECHIM, F. E. Características morfológicas do epitélio intestinal e desempenho de tilápia do nilo *Oreochromis niloticus* suplementada com mananoligossacarídeo (mos). Dissertação (Produção Animal). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, 2013.

CEROZI, B. S. (2012). *Prebióticos e probióticos dietéticos, desempenho e higidez de juvenis de pacu Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887)*. Master's Dissertation, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, University of São Paulo, Piracicaba. doi:10.11606/D.11.2012.tde-08082012-091906.

DALMIN, G.; KATHIRESAN, K.; PURUSHOTHAMAN, A. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. 2001.

DASH, P.; TANDEL, R.S.; BHAT, R.A.H.; MALLIK, S.; PANDEY, N.N.; SINGH, A.K.; SARMA, D. The addition of probiotic bacteria to microbial floc: Water quality, growth, non-specific immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* in mid-Himalayan altitude. **Aquaculture**, v.495, p.961-969, 2018.

DASH, P.; TANDEL, R.S.; RAJA, A.H.; N.N. PANDEY, A.K. SINGH, DEBAJIT SARMA. The addition of probiotic bacteria to microbial floc: Water quality, growth, non-specific immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* in mid-Himalayan altitude. **Aquaculture**, v.495, p.961-969, 2018.

EL-HAROUN, E.R.; GODA, AMA-S.; KABIR CHOWDHURY, M.A. Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture Research**, v.37, n.14, p.1473-1480, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in Action Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 2020.

FURLAN, R.L. Avaliação e uso de pré e probióticos. In: Simpósio Brasil Sul De Avicultura, Anais, 6, 58-74, 2005.

GHOSH A, BHARDWAJ M, SATYANARAYANA T, KHURANA M, MAYILRAJ S, JAIN RK. *Bacillus lehensis* sp. nov., an alkalitolerant bacterium isolated from soil. **Int J Syst Evol Microbiol**, v.57, p.238–242, 2007.

GOLTERMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. **Methods for physical & chemical analysis of freshwaters**. Blackwell Scientific Publication, Oxford. p.213, 1978.

GOMEZ-GIL, B.; ROQUE, A.; TURNBULL, J.F. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. **Aquaculture**, v.191, p.259-270, 2000.

HAPSARI, F. The effect of fermented and non fermented biofloc inoculated with bacterium *Bacillus cereus* for catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. **Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation**, v.9, p.334-339, 2016.

HISANO, H.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FREIRE, E.S.; GONÇALVES, G.S.; FERRARI, J.E.C. ZINCO e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, 26, 171-179, 2004.

HU, Z.; LEE, J.W.; CHANDRAN, K.; KIM, S.; BROTTTO, A.C.; KHANAL, S.K. Effect of plant species on nitrogen recovery in aquaponics. **Bioresource technology**. n.188, p.92-98, 2015.

ISOLAURI, E.; SÜTAS, Y.; KANKAANPÄÄ, P.; ARVILOMMI, H.; SALMINEN, S. Probiotics: effects on immunity. **The American journal of clinical nutrition**, v.73, p.444-450, 2001.

JASMIN, M.Y.; SYUKRI, F.; KAMARUDIN, M.S.; KARIM, M. Potential of bioremediation in treating aquaculture sludge. **Aquaculture**, v.519, p.734-905, 2020.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Biologia celular e molecular. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 376p.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Histologia básica. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 556p.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: E. GRASHOF; E. KREMLING (orgs.) **Methods of seawater analysis**. German: Verlag Chemie Weinheim, p.181, 1976.

KUBITZA, F. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões**. F. Kubitza, 2003.

LANANAN, F.; HAMID, S.H.A.; DIN, W.N.S.; KHATOON, H.; JUSOH, A.; ENDUT, A. Symbiotic bioremediation of aquaculture wastewater in reducing ammonia and phosphorus utilizing Effective Microorganism (EM-1) and microalgae (*Chlorella* sp.). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.95, p.127-134, 2014.

LEIRA, M.H.; REGHIM, L.S.; DA SILVA CIACCI, L.; DA CUNHA, L.T.; BOTELHO, H.A.; BRAZ, M.S.; MELO, C.C.V. Problemas sanitários das pisciculturas brasileiras. **Pubvet**, v.11, p.538-645, 2017.

LISBÔA, J.D.B. Avaliação dos efeitos toxicológicos da associação dos herbicidas 2, 4-D e Piclo-ram em peixes da espécie *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818). Tese de Doutorado. Universidade Federal do Oeste do Pará, 2019.

MELLO, H. DE; JULIETA R.E. DE M.; NIZA, I.G.; MORAES, F. R. DE; OZÓRIO, R.O.A.; SHIMADA, M.T.; ENGRACIA FILHO, J.R.; CLAUDIANO, G.S. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 33(6),724-730, 2013.

MOHAPATRA, S., CHAKRABORTY, T., PRUSTY, A.K., DAS, P., PANIPRASAD, K., MOHANTA, K.N., (2012). Use of different microbial probiotics in the diet of rohu, *Labeo rohita* fingerlings: Effects on growth, nutrient digestibility and retention, digestive enzyme

activities and intestinal microflora. **Aquac. Nutr.** 18, 1–11. doi:10.1111/j.1365-2095.2011.00866.x

MARINHO-SORIANO, E. et al. Bioremediation of aquaculture wastewater using macroalgae and *Artemia*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.65, n.1, p.253-257, 2011.

PORUBCAN, R.S. Reduction of ammonia nitrogen and nitrite in tanks of *Penaeus monodon* using floating biofilters containing processed diatomaceous earth media pre-inoculated with nitrifying bacteria. In: **Proceedings of the Program and Abstracts of the 22nd Annual Conference and Exposition**. World Aquaculture Society, p.16-20, 1991.

THY, H.T.T.; TRI, N.N.; QUY, O.M.; FOTEDAR, R.; KANNIKA, K.; UNAJAK, S.; AREECHON, N. Effects of the dietary supplementation of mixed probiotic spores of *Bacillus amyloliquefaciens* 54A, and *Bacillus pumilus* 47B on growth, innate immunity and stress responses of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v.60, p.391-399, 2017.

TORT, L., BALASCH, J. C., MACKENZIE, S. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses. **Imunología**, 22(3): 277-286, 2003.

WANG, M.; LU, M.X. Tilapia polyculture: a global review. **Aquaculture Research**, v.47 p.2363-2374, 2016.

YUNIASARI, D.; EKASARI, J. Nursery culture performance of *Litopenaeus vannamei* with probiotics addition and different C/N Ratio under laboratory condition. **Hayati Journal of Biosciences**, v.17, p.115-119, 2010.

YUSOFF, F.M.; BANERJEE, S.; KHATOON, H.; SHARIFF, M. Biological approaches in management of nitrogenous compounds in aquaculture systems. **Dyn Biochem Process Biotech Mol Biol**, v.5, p.21-31, 2011.

YUSUF, M.W.; UTOMO, N.B.P.; YUHANA, M. Growth performance of catfish (*Clarias gariepinus*) in Biofloc-Based super intensive culture added with *Bacillus* sp. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v.10(6), p.523, 2015.

ZHAO, Z.; XU, Q.; LUO, L.; WANG, C.; LI, J.; WANG, L. Effect of feed C/N ratio promoted bioflocs on water quality and production performance of bottom and filter feeder carp in minimum-water exchanged pond polyculture system. **Aquaculture**, v.434, p.442-448, 2014.

ZHU, B.; CHEN, S.; ZHAO, C.; ZHONG, W.; ZENG, R.; YANG, S. Effects of *Marichromatium gracile* YL28 on the nitrogen management in the aquaculture pond water. **Bioresource technology**, 292, 121917, 2019.

ZHU, B.; ZHANG, X.; ZHAO, C.; CHEN, S.; YANG, S. Comparative genome analysis of marine purple sulfur bacterium *Marichromatium gracile* YL28 reveals the diverse nitrogen cycle mechanisms and habitat-specific traits. **Sci. Rep.**, v.8(1), p.17803, 2018.

ZIAEI-NEJAD, S.; REZAEI, M.H.; TAKAMI, G.A.; LOVETT, D.L.; MIRVAGHEFI, A.R.; SHAKOURI, M. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. **Aquaculture**, v.252, p.516-524, 2006.