

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de
15/03/2025

At the author's request, the full text of this thesis/dissertation will not be available online until
Mar. 15, 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

EFEITOS DE *QUILLAJA SAPONARIA*, *YUCCA SCHIDIGERA* E *SACCHAROMYCES
CEREVISIAE* NO DESEMPENHO PRODUTIVO E SAÚDE DE TILÁPIAS-DO-NILO
(*OREOCHROMIS NILOTICUS*) SUBMETIDAS A DIFERENTES TIPOS DE ESTRESSE

MATHEUS GARDIM GUIMARÃES

Tese apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Zootecnia
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor

BOTUCATU – SP

Março de 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

EFEITOS DE *QUILLAJA SAPONARIA*, *YUCCA SCHIDIGERA* E *SACCHAROMYCES
CEREVISIAE* NO DESEMPENHO PRODUTIVO E SAÚDE DE TILÁPIAS-DO-NILO
(*OREOCHROMIS NILOTICUS*) SUBMETIDAS A DIFERENTES TIPOS DE ESTRESSE

MATHEUS GARDIM GUIMARÃES

Orientadora: Prof^ª. Ass. Dra. Margaria Maria Barros

Coorientador: Dr. Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

Tese apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Zootecnia
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor

BOTUCATU – SP

Março de 2024

G963e Guimarães, Matheus Gardim
EFEITOS DE QUILLAJA SAPONARIA, YUCCA SCHIDIGERA E
SACCHAROMYCES CEREVISIAE NO DESEMPENHO PRODUTIVO E SAÚDE
DE TILÁPIAS-DO-NILO (OREOCHROMIS NILOTICUS) SUBMETIDAS A
DIFERENTES TIPOS DE ESTRESSE / Matheus Gardim Guimarães. -- Botucatu, 2024
137 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientadora: Margarida Maria Barros
Coorientadora: Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

1. Aditivos eubióticos. 2. Imunonutrição. 3. Oreochromis niloticus. 4. Sistemas
intensivos de produção. 5. Streptococcus agalactiae. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ATESTADO DE APROVAÇÃO - DEFESA

Atestamos que **MATHEUS GARDIM GUIMARÃES**, RA nº: ZNP200174, RG nº 45.094.299-5, expedido pela SSP/SP, defendeu, no dia 15/03/2024, a tese intitulada **Efeitos de Quillaja saponaria, Yucca schidigera e Saccharomyces cerevisiae no desempenho produtivo e saúde de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a diferentes tipos de estresse**, junto ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Curso de Doutorado, tendo sido 'APROVADO'.

Atestamos ainda que a obtenção do título dependerá de homologação pelo Órgão Colegiado competente.

Botucatu, 15 de março de 2024



Cláudia Cristina Moreci
Assistente Administrativo
Seção de Pós-Graduação / FMVZ

BIOGRAFIA DO AUTOR

Matheus Gardim Guimarães, filho de Renato Ferreira Guimarães e Fabiana Gardim Guimarães, nasceu no município de Caieiras, São Paulo, no dia 31 de julho de 1995. Ingressou no curso de graduação em Zootecnia no Universidade Estadual Paulista “*Júlio de Mesquita Filho*”, Câmpus de Botucatu em março de 2013 e concluiu em 01 de dezembro de 2017.

No ano seguinte, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Curso de Mestrado, na Universidade Estadual Paulista “*Júlio de Mesquita Filho*”, Câmpus de Botucatu, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Saúde de Peixes, sendo que a pesquisa desenvolvida avaliou a capacidade antioxidante e o desempenho produtivo de tilápia-do-Nilo alimentada com dietas suplementadas com farinha de bagaço de uva e resveratrol. Obteve o título de Mestre no dia 29 de maio de 2020.

Em agosto de 2020, ingressou no curso de doutorado em Zootecnia pela mesma instituição e desenvolveu projeto de pesquisa no Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes orientado pela Prof^a. Ass. Dra. Margarida Maria Barros e coorientado pelo Dr. Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho. A pesquisa desenvolvida investiga os efeitos de *Quillaja saponaria*, *Yucca schidigera* e *Saccharomyces cerevisiae* no desempenho produtivo e saúde de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a diferentes tipos de estresse.

No dia 15 de março de 2024 obteve o título de Doutor em Zootecnia.

*“Não estamos aqui para fazer o fácil;
estamos aqui para fazer o difícil. ”*

Paulo Cavalcante Muzy

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

Renato Ferreira Guimarães e Fabiana Gardim Guimarães por tudo que fazem, fizeram e se precisar fazem o impossível por mim, por todos os ensinamentos e conselhos e, principalmente, por serem meus melhores amigos, amo vocês mais que uma rua!

À minha esposa,

Michele Alves de Sousa Guimarães, amor da minha vida, minha melhor amiga, companheira, que sempre está lá para dividir tudo que se passa comigo ou com ela, que está sempre comigo para me erguer e deixar meu dia melhor. Te amo demais minha vida!

À

Toda minha família e amigos, que mesmo com a distância de alguns sempre que estamos juntos, é maravilhoso, além de sempre me incentivarem e estarem sempre lá para o que der e vier.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, pela vida e saúde para me levantar e fazer o que é necessário e por sempre me dar forças, paz, sabedoria e direcionamento para conseguir conquistar todos os meus objetivos.

Aos meus pais Renato Ferreira Guimarães e Fabiana Gardim Guimarães, que fizeram e fazem de tudo para que eu consiga seguir no meu objetivo e na minha carreira como pesquisador e, principalmente, em ser profissional, além de me ajudar em seguir na área que amo, a Zootecnia, e mesmo eu tendo a pretensão de realizar o doutorado e sabendo da possibilidade que realizá-lo sem bolsa para me manter em outra cidade e em pleno ápice da pandemia do Covid19, me apoiaram de todas as maneiras. Com certeza eu não estaria onde estou hoje pretendendo ao título de Doutor em Zootecnia sem a amizade que temos e, principalmente, o amor que nos une, essa conquista é por vocês e para vocês. Amo vocês demais! Muito mais que uma rua!!!

À minha esposa, Michele Alves de Sousa Guimarães, amor da minha vida há 14 anos. Quando li os agradecimentos da minha dissertação ainda era minha noiva, e hoje você carrega a materialização do nosso amor no seu ventre, ele que foi tão desejado e já é muito amado. Mesmo tendo passado metade da minha vida ao seu lado, ainda estamos só no começo da nossa história juntos. Eu estar aqui hoje se deve muito a você, por ter encarado a empreitada de sair da casa dos seus pais, e morar comigo durante o decorrer do meu doutorado, além de buscar ter uma vida em Botucatu, com um bom emprego, e boas amizades. Não menos importante, em me apoiar e acalmar em momentos difíceis assim como meus pais faziam e fazem até hoje, como por exemplo nas duas vezes que perdi meu experimento de doutorado em que ambas estavam próximas da metade do período experimental. Espero, e farei de tudo para ter você sempre ao meu lado, portanto, mais uma vez, esta também é uma conquista por você e para você! Te amo demais minha vida!

À minha orientadora, Prof^a. Ass. Dr^a. Margarida Maria Barros, por me acolher em seu grupo de pesquisa desde o dia que fui pedir para dar uma palestra no grupo de estudos e posteriormente ao estágio, conseguimos uma iniciação científica (CNPq – PIBIC). Além disso me deu a oportunidade de realizar meu estágio de 5º ano no exterior (Auburn University, USA) e, posteriormente, aceitou me orientar no mestrado. No doutorado, logo abracei a oportunidade de realizar o experimento com empresa, que como dizemos “o prazo é para três anteontem” mas, infelizmente, não deu certo por duas vezes e, mesmo assim, não me deixou abalar e prontamente realizamos as reformas e manutenções necessárias para darmos prosseguimento. Além de tudo isso, me mostrar ainda mais o amor pela pesquisa. Não tenho

palavras para agradecer tamanha generosidade e paciência ao longo desses sete anos. Muitíssimo obrigado professora! E caso eu esqueça, “Sim senhora professora”.

Ao meu co-orientador, Dr. Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho, que sempre se prontificou em ajudar, desde quando auxiliou na correção do meu trabalho de conclusão de curso em Zootecnia, mesmo com outras tarefas a serem realizadas em seu doutorado e, posteriormente, o Pós-doc, sempre estava lá para ajudar e orientar, hoje mesmo estando com ao lado do “papa” da nutrição de peixes, sempre se faz presente para o que precisar e ajudar como pode. Muitíssimo obrigado chefinho!

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, equipe AquaNutri, (William Xavier, Edgar Damasceno e Paulo Ito) e aos alunos de iniciação científica Gabriel, Jaime, Laís e Pedro. Meu muito obrigado a todos vocês por toda ajuda e por todo esse tempo de laboratório que passei ao lado de vocês. Sem o trabalho conjunto de nosso time, nada disso seria possível!! Meu muitíssimo obrigado!!!

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, por toda inspiração pela carreira que construiu e constrói. É um privilégio poder trabalhar com uma pessoa tão renomada em nossa área como o senhor. E também por sempre se preocupar com os alunos e sempre ter algum ensinamento para passar, meu muitíssimo obrigado!

À toda equipe da PHIBRO Animal Health Corporation®, Daniel Fuziki, Benny Shapira, Bruna Boaro Martins, Bruna Castro, Dafna Israel e todos os outros que auxiliaram para o entendimento e conclusão desta pesquisa, meu muitíssimo obrigado!

À Professora Dr^a. Fabiana Pilarski, que além de nos auxiliar com os métodos de desinfecção do laboratório, não mede esforços para nos ajudar com a doação de cepas bacterianas para a condução do meu e futuros experimentos, muitíssimo obrigado!

À doutoranda Daiane Vaneci, por separar um dia inteiro para nos receber no laboratório e ser nossa professora, nos explicando as metodologias de cultivo e inoculação bacteriana, além do auxílio e troca de experiências com a condução das inoculações, meu muitíssimo obrigado!

A todos que de alguma forma me ajudaram na condução e realização deste experimento, como: Dr Ademir Calvo Fernandes Junior “Xuxa” da Piscicultura Proaqua, fornecimento dos ingredientes das rações; Thais Gornati Gonçalves, da piscicultura S3 pela doação dos peixes para o experimento de digestibilidade; Rosana Cristina Moraes Trevisan da INCOFAP, doação de farinha de penas; Igor Simões, auxiliou na condução das análises enzimáticas; a doutoranda Lais Cordeiro, que mesmo sendo do laboratório vizinho, pelo auxílio nas análises e, também, pela troca de informações e conhecimentos;

o mesmo vale para toda equipe do Laboratório de aves, que são muitos para nomear. Meu muitíssimo obrigado a todos vocês.

À Coordenação e todos os professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia – PPGZOO, pela minha formação, especificamente a Prof^a. Ass. Dr^a. Margarida Maria Barros coordenadora da atual gestão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO GERAL

Com a expansão contínua da aquicultura e a adoção dos sistemas intensivos de produção, têm sido observado aumento da exposição dos peixes à fatores estressores, uso indiscriminado de antimicrobianos e comprometimento da saúde, o que pode resultar em perdas econômicas significativas. O uso errôneo de antimicrobianos pode afetar negativamente o ambiente além de selecionar agentes patogênicos resistentes. Na tentativa de contornar tais fatores, produtores buscam alternativas, sendo que os aditivos nutricionais se destacam. Desta forma, a utilização de aditivos eubióticos surge como alternativa promissora para promover o desempenho produtivo, resistência a manejos indispensáveis e respostas imunológicas dos peixes, além de permitir a redução no uso de antimicrobianos. Sendo assim, esta pesquisa teve como objetivos avaliar os efeitos da suplementação dietética de *Quillaja saponaria*, *Yucca schidigera* e *Saccharomyces cerevisiae* no desempenho produtivo, morfometria intestinal, digestibilidade, perfil antioxidante, respostas hematológicas e imunológicas de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a três desafios: estresse por classificação de tamanho, infecção por *Streptococcus agalactiae*, e infecção por *Streptococcus agalactiae* + 12 horas de hipóxia. Desta forma, a pesquisa foi dividida em três estudos. No primeiro estudo foi avaliada a digestibilidade das rações. Para tal foram utilizados 216 tilápias-do-Nilo machos (~ 80g) distribuídos em 12 tanques (18 peixes/tanque) e alimentados com quatro dietas experimentais (dieta de controle, dieta suplementada com extrato de *Quillaja saponaria* + *Yucca schidigera*, dieta suplementada com *Saccharomyces cerevisiae* e a combinação de ambos) para coleta de fezes durante período de 9 dias e, posteriormente, calculado o coeficiente de digestibilidade aparente. Para o segundo estudo, 600 tilápias-do-Nilo machos (~ 8,9 g) foram distribuídos aleatoriamente em 40 tanques de 250 L (15 peixes/tanque) e alimentados com as mesmas dietas anteriormente mencionadas, durante o período de 60 dias. Posteriormente, foram avaliados o desempenho produtivo, a composição bromatológica da carcaça e a morfometria intestinal. Além desses parâmetros foi analisado o perfil hematológico, resposta imune inata, atividade de enzimas do sistema antioxidante e parâmetros bioquímicos. Para tal, foram coletados sangue de dez peixes por tratamento. Os dados obtidos foram considerados antes dos desafios. Também após aos 60 dias, no terceiro estudo, grupos foram submetidos a diferentes tipos de estresse: um grupo de 60 peixes foi submetido a estresse por classificação de tamanho, outro grupo de 72 peixes a infecção por *Streptococcus agalactiae* (BAC) (15 dias) e, um outro grupo de 136 peixes, a infecção por *Streptococcus agalactiae* + 12 horas de hipóxia (BAC + HP) (15 dias). Após os desafios, as análises de perfil hematológico, resposta imune inata, atividade de enzimas do sistema antioxidante e parâmetros bioquímicos foram novamente realizadas, para gerar comparativo com o período sem desafio. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey e do teste t. As diferenças foram consideradas

estatisticamente significativas quando $P < 0,05$. Os peixes arraoados com dietas suplementadas não apresentaram diferenças significativas no desempenho e apresentaram efeitos limitados nos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e da energia. As dietas suplementadas com extrato de *Quillaja saponaria* + *Yucca schidigera* apresentaram maior nível de conteúdo fenólico, capacidade antioxidante e maior sobrevivência após BAC e BAC + HP, e a combinação de *Quillaja saponaria*, *Yucca schidigera* e *Saccharomyces cerevisiae*, o menor. A suplementação de *Saccharomyces cerevisiae* melhorou o comprimento das vilosidades do intestino médio e promoveu menor sobrevivência após BAC e BAC + HP. Os peixes alimentados com dietas suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram melhores respostas imunitárias inata e capacidade antioxidante após desafios. Os resultados deste estudo sugerem que a suplementação dietética com *Saccharomyces cerevisiae* determinou melhores resultados gerais para saúde, mas não foi suficiente para evitar a mortalidade por infecção bacteriana. Além disso, mais estudos são necessários para validar a combinação de aditivos eubióticos a base de *Quillaja saponaria*, *Yucca schidigera*, *Saccharomyces cerevisiae* e suas combinações na nutrição dos peixes.

Palavras-chave: Aditivos eubióticos; imunonutrição; *Oreochromis niloticus*; sistemas intensivos de produção; *Streptococcus agalactiae*.

ABSTRACT

With the continuous expansion of aquaculture and the adoption of intensive production systems, there has been an increase in the exposure of fish to stress factors, indiscriminate use of antimicrobials and compromised health, which can result in significant economic losses. The misuse of antimicrobials can negatively affect the environment and select resistant pathogens. In an attempt to overcome these factors, producers are looking for alternatives, with nutritional additives standing out. In this way, the use of eubiotic additives has emerged as a promising alternative to promote growth performance, resistance to essential management and immune responses in fish, as well as allowing a reduction in the use of antimicrobials. The aim of this study was to evaluate the effects of dietary supplementation with *Quillaja saponaria*, *Yucca schidigera* and *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, intestinal morphometry, digestibility, antioxidant profile, hematological and immunological responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to three challenges: size-sorting-induced stress, *Streptococcus agalactiae* infection, and *Streptococcus agalactiae* infection + 12 hours of hypoxia. The research was divided into three studies. In the first study, the digestibility of the feed was assessed. For this purpose, 216 male Nile tilapia (~ 80g) were distributed in 12 tanks (18 fish/tank) and fed four experimental diets (control diet, diet supplemented with *Quillaja saponaria* + *Yucca schidigera* extract, diet supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* and a combination of both) to collect feces over a 9-day period and then calculate the apparent digestibility coefficient. For the second study, 600 male Nile tilapia (~ 8.9 g) were randomly allocated to 40 250 L aquariums (15 fish/aquarium) and fed the same diets as mentioned above for a period of 60 days. Subsequently, growth performance, whole-body composition and intestinal morphometry were assessed. In addition to these parameters, the hematological profile, innate immune response, antioxidant enzyme activity and biochemical parameters were analyzed. For this purpose, blood was collected from ten fish per treatment. The data obtained was considered before challenges. Also after 60 days, in the third study, groups were subjected to different types of stress: a group of 60 fish were subjected to size-sorting-induced stress, another group of 72 fish to *Streptococcus agalactiae* infection (BAC) (15 days) and another group of 136 fish to *Streptococcus agalactiae* infection + 12 hours of hypoxia (BAC + HP) (15 days). After the challenges, the hematological profile, innate immune response, antioxidant enzyme activity and biochemical parameters were analyzed again in order to generate a comparison with the period without challenge. The data was submitted to analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test and the t-test. Differences were considered statistically significant when $P < 0.05$. Fish fed supplemented diets showed no significant differences in growth performance and limited effects on the apparent digestibility coefficients of nutrients and energy. Diets supplemented with *Quillaja saponaria* + *Yucca schidigera* extract showed the highest levels of phenolic content,

antioxidant capacity and survival after BAC and BAC + HP, and the combination of *Quillaja saponaria*, *Yucca schidigera* and *Saccharomyces cerevisiae* the lowest. *Saccharomyces cerevisiae* supplementation improved midgut villus length and promoted lower survival after BAC and BAC + HP. Fish fed diets supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* showed better innate immune responses and antioxidant capacity after challenges. The results of this study suggest that dietary supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* determined better overall health parameters, but it was not sufficient to avoid mortality under bacterial infection. Furthermore, further studies are necessary to validate the combination of eubiotic additives based on *Quillaja saponaria*, *Yucca schidigera*, *Saccharomyces cerevisiae* and their combinations in fish nutrition.

Keywords: Eubiotic additives; immunonutrition; intensive production systems; *Oreochromis niloticus*; *Streptococcus agalactiae*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1: Resposta ao estresse.....	26
Figura 2: Estrutura de Saponina de <i>Quillaja saponaria</i>	31
Figura 3: Estrutura de Saponina de <i>Yucca schidigera</i>	31
Figura 4: Sistema antioxidante.....	37

CAPÍTULO II

Figure 1: Serum lysozyme activity after five minutes	131
Figure 2: Serum lysozyme activity after ten minutes	131
Figure 3: Nitro blue tetrazolium in blood.....	132
Figure 4: Serum alternative complement activity.....	132
Figure 5: Mortality of BAC: bacterial challenge with <i>Streptococcus agalactiae</i> infection; BAC + HP: bacterial challenge with <i>Streptococcus agalactiae</i> infection + 12 hours hypoxia.....	132
Figure 6: Superoxide dismutase activity.....	133
Figure 7: Catalase activity.....	133
Figure 8: Glutathione peroxidase activity.....	134
Figure 9: Liver lipid peroxidation.....	134

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO II**

Table 1: Formulated and analyzed proximate composition of experimental diets, analyzed proximated and analyzed phenolic content and antioxidant capacity of experimental diets	125
Table 2: Apparent digestibility coefficients (%) of the experimental diets for nutrient, energy and minerals.....	126
Table 3: Growth performance and whole-body composition of Nile tilapia fed diets for 60 days.....	127
Table 4: Intestinal permeability of Nile tilapia fed diets for 60 days.....	128
Table 5: Intestinal morphometry of Nile tilapia fed diets for 60 days.....	128
Table 6: Hematological parameters of Nile tilapia subjected to different challenges.....	129
Table 7: Blood glucose and plasma cortisol of Nile tilapia subjected to different challenges.....	130

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACH50	Serum alternative complement activity
ADC	Apparent digestibility coefficients
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
ATP	Adenosina trifosfato / Adenosine TriPhosphate
BAC	<i>Streptococcus agalactiae</i> infection
BAC + HP	<i>Streptococcus agalactiae</i> infection + 12 hours hypoxia
BHI	Brain heart infusion
CAM	Complexos de ataque a membrana
CAT	Catalase
CD4	Linfócitos T auxiliares
CD8	Linfócitos T citotóxicos
CE	Crude energy
CHMI	Complexo de histocompatibilidade maior classe I
CHMII	Complexo de histocompatibilidade maior classe II
CJA	Complexo de junções apicais
CL	Crude lipid
CORT	Cortisol
CP	Crude protein
DM	Dry matter
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Fe²⁺	Ferro férrico
Fe³⁺	Ferro ferroso
FITC-d	Fluoresceína isotiocianato–dextrana
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
GLU	Glucose
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GPx	Glutathione peroxidase

GR	Glutathiona redutase
GSH	Glutathiona reduzida
GSSG	Glutathiona oxidada
H⁺	Hidrogênio
H₂O	Água / Water
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio / Hydrogen peroxide
Hb	Hemoglobin
HSP70	Proteínas de choque térmico de 70 quilodaltons
Htc	Hematocrit
IL	Interleucinas
JAs	Junções aderentes
JOs	Junções oclusivas
LD₅₀	Lethal dose 50%
LYZ	Lysozyme
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration
MCV	Mean corpuscular volume
MDA	Mmalonaldeído
MDA	Malondialdehyde
MOS	Mananoligossacarídeos / Mannan-oligosaccharides
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
NBT	Nitroblue tetrazolium
NH₃	Amoníaco
NO₃⁻	Nitrato
O₂	Oxigênio
O₂⁻	Ânion superóxido
OH⁻	Radical hidroxila / Hydroxyl radical
ON	Óxido nítrico
ONOO⁻	Peroxinitrito / Peroxynitrite
PBS	Phosphate-buffered saline
pH	Potencial hidrogeniônico

PMAAPs	Padrões moleculares associados a agentes patogênicos
RBC	Red blood cell
RTTs	Receptores tipo toll
SOD	Superóxido dismutase
SOD	Superoxide dismutase
SSIS	Size-sorting induced stress
TBA	Ácido tiobarbitúrico / Thiobarbituric acid
TCA	Ácido tricloroacético / Trichloroacetic acid
TNF	Fator de necrose tumoral
TP	Fenóis totais / Total phenols
β	Beta

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

Considerações Iniciais.....	24
1. Revisão de Literatura.....	24
1.1. Cenário atual da piscicultura intensiva e seus desafios.....	24
2. Sistema antioxidante em peixes.....	35
3. Resposta imunológica em peixes.....	39
4. Saúde intestinal em peixes.....	45
5. Referências bibliográficas.....	48

CAPÍTULO II

“Effects of *Quillaja saponaria*, *Yucca schidigera* and *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance and health of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to different types of stress”

ABSTRACT.....	81
1. <i>Introduction</i>	83
2. <i>Material and methods</i>	85
2.1. <i>Experimental diets and feeding management</i>	86
2.2. <i>Quantification of total phenols (TP), DPPH and FRAP in diets</i>	87
2.3. <i>Digestibility trial (Study I)</i>	87
2.4. <i>Growth performance (Study II)</i>	88
2.5. <i>Intestinal permeability</i>	89

2.6. Intestinal morphometry	89
2.7. Chemical Bromatological Analyzes	89
2.8. Challenges (Study III)	90
2.8.1. Size-sorting-induced stress (SSIS)	90
2.8.2. Bacterial challenge with <i>Streptococcus agalactiae</i> infection (BAC)	91
2.8.3. Bacterial challenge with <i>Streptococcus agalactiae</i> infection + 12 hours hypoxia (BAC + HP)	92
2.8.4. Hematological profile	92
2.8.5. Immunological parameters	92
2.8.6. Liver antioxidant enzyme activity	93
2.8.7. Liver lipid peroxidation (MDA)	93
2.8.8. Statistical analysis	94
3. Results	94
3.1. Phenolic content and antioxidant capacity of experimental diets	94
3.2. Apparent digestibility coefficient	94
3.3. Growth performance and whole body composition	95
3.4. Intestinal permeability	95
3.5. Intestinal morphometry	95
3.6. Hematological parameters: SSIS	95
3.7. Hematological parameters: BAC	96
3.8. Hematological parameters: BAC + HP	96

3.9. <i>Immunological parameters: SSIS</i>	96
3.10. <i>Immunological parameters: BAC</i>	96
3.11. <i>Immunological parameters: BAC + HP</i>	96
3.12. <i>Antioxidant enzyme activity: SSIS</i>	97
3.13. <i>Antioxidant enzyme activity: BAC</i>	97
3.14. <i>Antioxidant enzyme activity: BAC + HP</i>	97
4. <i>Discussion</i>	98
5. <i>Conclusion</i>	104
6. <i>Acknowledgments</i>	106
7. <i>Bibliographical references</i>	106

CAPÍTULO III

Implicações	135
--------------------------	-----

CAPÍTULO I

Considerações Iniciais

A piscicultura visa a produção de peixes para o consumo humano, aliada a aquicultura, é a atividade que tem apresentado maior evolução nos últimos anos. O setor é responsável por mais de 50% dos alimentos provenientes do ambiente aquático, ultrapassando a quantidade de alimentos provenientes do extrativismo (FAO, 2021). Devido à crescente demanda de proteína animal oriunda do crescimento populacional, a prática da aquicultura demonstrou evolução contínua, passando de sistemas extensivos de produção, até chegar aos dias atuais com a adoção de sistemas intensivos de produção (Chen *et al.*, 2014). Dentre as espécies produzidas em sistemas intensivos de produção, a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) se destaca por suas características zootécnicas favoráveis, sendo que a produção em 2020 atingiu 9% da produção global de peixes, configurando como a segunda espécie mais produzida no mundo (El-Sayed, 2019; FAO, 2020). O Brasil atualmente é o 4º maior produtor mundial de tilápia-do-Nilo, sendo que no ano de 2022 foram produzidas mais de 550 mil toneladas desta espécie (Peixe BR, 2023).

O sistema intensivo de produção é caracterizado pela alta taxa de densidade de alojamento, seguido pela deterioração da qualidade de água e consecutivos manejos, sejam eles para classificação e/ou vacinação dos peixes. Consequentemente, torna-se evidente o declínio nas respostas produtivas, o desafio ao bem-estar animal e os surtos de doenças enfrentadas, sejam bacterioses ou viroses (Abdel-Tawwab, 2012; Oliva-Teles, 2012; Yilmaz, 2019).

1. Revisão de Literatura

1.1. Cenário atual da piscicultura intensiva e seus desafios

A intensificação da produção aquícola aumenta a ação de agentes estressores, o que resulta em problemas de saúde para os peixes e perdas econômicas para o produtor. Tais agentes podem demandar respostas fisiológicas além da homeostase, com redirecionamento de energia que, dependendo da origem, percepção ou duração dos fatores estressores, podem debilitar os

peixes e favorecer a infecção por agentes patogênicos (Tort, 2011). Entre as diversas práticas de manejo, há aquelas que são consideradas mais estressantes, como por exemplo, a captura dos peixes, a qual é precedida por perseguição, exposição aérea e lesões na superfície corporal (Arends *et al.*, 1999; Hoshiba *et al.*, 2009; Fernandes Jr *et al.*, 2016; Freitas *et al.*, 2022). Somado ao estresse de manejo ocorrem, ainda, os fatores estressores naturais como variações de temperatura, pH, níveis de amônia e oxigênio na água, por exemplo (Tsuzuki *et al.*, 2001; Usha *et al.*, 2011).

Naturalmente o sistema fisiológico do animal procura se sobressair frente aos agentes estressores, sendo que tais reações são denominadas como respostas ao estresse (Figura 1), sendo divididas em primária, secundária e terciária. A resposta primária, conhecida como reação de alarme é caracterizada pela rápida resposta fisiológica, a qual é ativada pelo sistema nervoso central, resultando na liberação de catecolaminas e corticosteroides, sendo esta seguida por uma segunda resposta fisiológica. Durante a resposta secundária, o organismo se adapta ou compensa as condições alteradas a fim de recuperar a homeostase, sendo definida por múltiplas ações e efeitos desses hormônios no sangue e tecido, incluindo o aumento do débito cardíaco, consumo de oxigênio e mobilização de substratos energéticos e distúrbio do balanço osmótico. Se o estresse é excessivamente severo ou duradouro, a compensação pode não ser estabelecida e o organismo entra em colapso. Esta é a resposta terciária, de natureza crônica, acarretando ao animal a inibição do crescimento, reprodução, resposta imune e redução à tolerância aos agentes estressores subsequentes (Tort, 2011). Devido ao gasto energético e desbalanço osmótico, caudado pelo enfrentamento do estresse, os animais ficam susceptíveis a patógenos oportunistas presentes no meio (Abdel-Latif *et al.*, 2020).

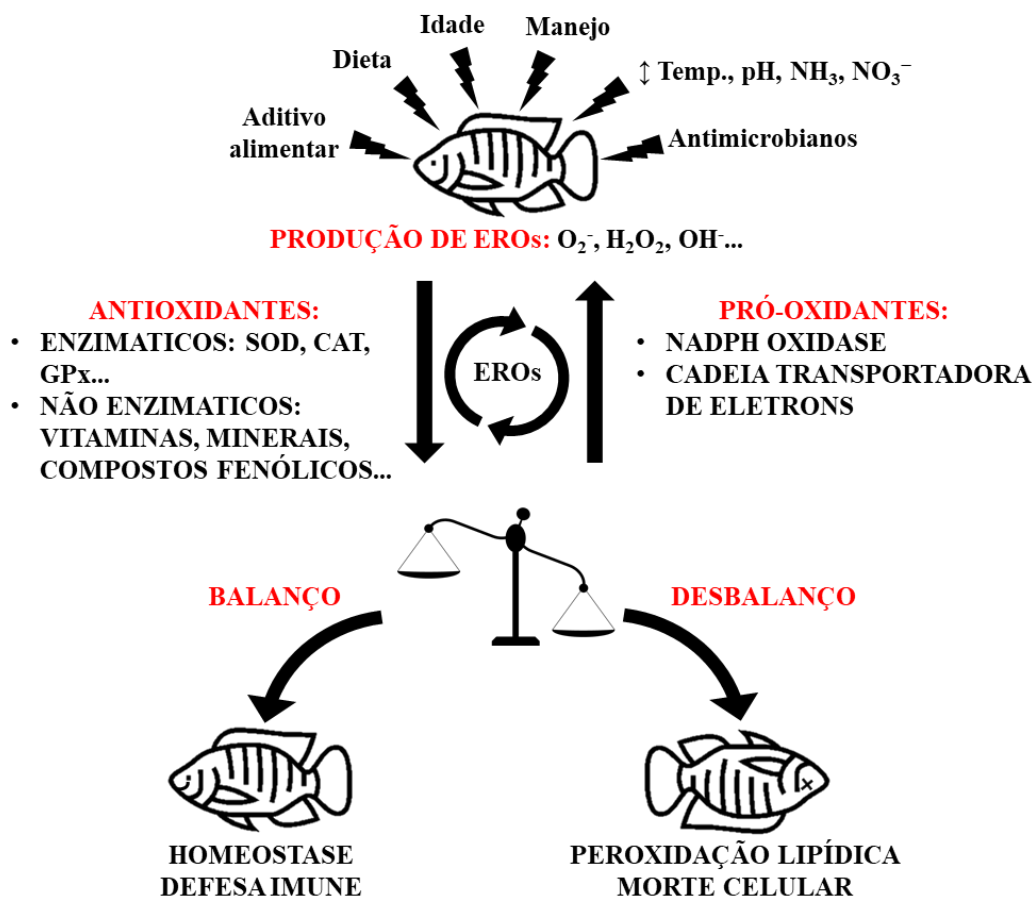


Figura 1: Resposta ao estresse, adaptado Hoseinifar *et al.*, 2021.

Um dos principais patógenos comumente encontrados em sistemas intensivos de produção no mundo é a bactéria Gram-positiva *Streptococcus spp.* (Klesius *et al.*, 2008; Suanyuk *et al.*, 2008; Aly, 2013; Jantrakajorn *et al.*, 2014; Hassan *et al.*, 2020). As infecções por *Streptococcus spp.* em tilápias-do-Nilo são causadas por bactérias da família *Streptococcaceae*, filo *Firmicutes* e ordem *Lactobacillales*. O gênero *Streptococci* é amplo e possui mais de 50 espécies, dentre elas a *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus iniae*, *Streptococcus dysagalactiae* e *Streptococcus parauberis*, que foram descritas como patógenos que causam infecção em peixes (Curras *et al.*, 2002; Eldar; Ghittino, 1999; Soltani *et al.*, 2012; Zamri-Saad *et al.*, 2010).

A *Streptococcus agalactiae*, pertencente aos *Streptococcus* do grupo B, é uma bactéria Gram-positiva que está presente mundialmente nos sistemas intensivos de produção (Dramsi *et*

al., 2006; Zhu *et al.*, 2018). A infecção por *Streptococcus agalactiae* acarreta vários sinais clínicos inespecíficos, que incluem hemorragias nas brânquias, redução no consumo de ração, hemorragias nos olhos, opacidade da córnea, hemorragias na base das nadadeiras e opérculos e lesões hemorrágicas na pele (Bullock, 1981; Yanong & Floyd, 2002; Salvador *et al.*, 2005). Outros sinais clínicos incluem escurecimento da pele e natação irregular. Em alguns casos, no entanto, os peixes afetados não apresentavam sinais clínicos antes da morte, e a mortalidade ocorre devido a septicemia (Barham *et al.*, 1979; Yanong; Floyd, 2002). A infecção pela bactéria tem provocado perdas econômicas significativas para a piscicultura intensiva, sendo que a prevalência e severidade da infecção dependem de fatores ambientais, como elevada temperatura e baixa qualidade da água, geralmente ocasionados por manejos incorretos e/ou por altas densidades de alojamento (Bromage; Owens, 2002). A bactéria *Streptococcus agalactiae* além de infectar peixes, pode causar diversas doenças infecciosas, incluindo pneumonia, sepse e meningite em humanos e animais terrestres (Lalioui *et al.*, 2005; Pereira *et al.*, 2010).

Na busca por prevenir e minimizar perdas econômicas ocasionadas por doenças e, conseqüentemente, declínios na produção, diferentes antimicrobianos, fitoterápicos e outros medicamentos têm sido administrados regularmente por meio de injeções, banhos, ou em alguns casos, via ração (Ding; He, 2010; Rashidian *et al.*, 2020). Os antimicrobianos podem ser definidos como substâncias que têm a capacidade de eliminar ou inibir o crescimento de agentes patogênicos, e tais fármacos podem ser oriundos de fontes naturais ou sintéticas (Romero *et al.*, 2012). Os antimicrobianos devem ser seguros para o hospedeiro, permitindo seu uso como agentes quimioterápicos para o tratamento de doenças, e seu uso pode ser categorizado como profilático, terapêutico ou metafilático (Cabello, 2006). Nos sistemas intensivos de produção, os antimicrobianos em níveis terapêuticos são frequentemente administrados por curtos períodos, por meio de banhos ou adicionados as rações (Defoirdt *et al.*, 2011).

Entretanto, os peixes não metabolizam os antimicrobianos de forma eficaz, fazendo com que grande parte seja eliminado pelas excretas. Estima-se que 75% dos antimicrobianos fornecidos aos peixes sejam excretados na água (BurrIDGE *et al.*, 2010). Segundo DEFOIRDT *et al.* (2011), aproximadamente 500 a 600 toneladas de antimicrobianos voltados para o enfrentamento de agentes patogênicos foram utilizadas para a produção aquícola na Tailândia em 1994, e as proporções não seguem padrão, podendo variar de 1 g por tonelada na Noruega a 700 g por tonelada no Vietnã.

Portanto, o uso indiscriminado de tais fármacos pode não só ter efeitos colaterais consideráveis nos sistemas intensivos de produção, suprimindo a imunidade do lote e selecionando cepas mais virulentas de patógenos, mas também ameaça a resistência natural do animal contra patógenos oportunistas (Akanmu, 2018; Dawood; Koshio, 2018; Sarhadi *et al.*, 2020). Desta forma, aditivos eubióticos/alternativos, para melhor preparar o animal para possível enfrentamento de doenças, são necessários para garantir a produção saudável de forma sustentável.

Assim, nos últimos anos, tem se empregado o uso de aditivos alimentares conhecidos como eubióticos, os quais além da nutrição, promovem saúde dos animais que consomem este eubiótico, com maior resistência a fatores estressores e patógenos presentes nos sistemas intensivos de produção (Yilmaz, 2020; Yousefi *et al.*, 2020).

Os aditivos alimentares foram definidos como ingredientes ou componentes não nutritivos, que ao serem suplementados em formulações, não necessariamente influenciam as propriedades físicas ou químicas da dieta, o ganho de peso dos peixes ou a qualidade do produto final. A natureza química desses aditivos é diversificada e o uso em dietas comerciais para peixes pode variar consideravelmente (NRC, 2011).

Dentre os aditivos eubióticos para rações, estão os prebióticos, probióticos, fitogênicos e ácidos orgânicos, pode-se destacar os prebióticos e fitogênicos, os quais têm por finalidade

promover maior saúde aos peixes submetidos aos sistemas intensivos de produção. Recentemente, esforços vêm sendo envidados na busca e utilização de produtos derivados de plantas em substituição a fármacos em sistemas intensivos de produção de peixes (Bulfinch *et al.*, 2015). Fitogênicos, e seus respectivos coprodutos contêm biomoléculas/fitomoléculas que podem ser eficazes, como aditivo (eubiótico). Estes compostos podem promover o desempenho, aumento da sobrevivência, das respostas do sistema antioxidante e a imunomodulação do sistema imunológico (Jeney *et al.*, 2015; Vicente *et al.*, 2018; Xavier *et al.*, 2020; Naliato *et al.*, 2021).

Isso se deve ao fato de que as plantas possuem metabólitos secundários como os compostos fenólicos, alcaloides, quinonas, terpenóides, lectinas e polipeptídeos, muitos dos quais são alternativas de suporte aos antimicrobianos, produtos químicos, vacinas e outros compostos sintéticos (Harikrishnan *et al.*, 2011).

Como exemplo de aditivo eubiótico fitogênico estão a *Quillaja saponaria* (Figura 2) e *Yucca schidigera* (Figura 3) que são fontes de saponinas e polifenóis, além dos polifenóis presentes em sua composição. Outro aditivo eubiótico com grande representatividade são os prebióticos baseados em levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Assim, essas classes de aditivos eubióticos se tornam cada vez mais estratégias promissoras para os sistemas intensivos de produção.

A *Quillaja saponaria* é encontrada em áreas áridas do Chile (Francis *et al.*, 2002a), e é fonte reconhecida de extratos ricos em saponinas do tipo triterpenica, e também de compostos polifenólicos e polissacarídeos (San Martín *et al.*, 2000; Maier *et al.*, 2015). A *Yucca schidigera*, é planta nativa do sudoeste dos EUA e do México (Cheeke *et al.*, 2006), que nos últimos anos vem sendo utilizada como extratos no setor aquícola devido aos benefícios apresentados, como por exemplo a redução do estresse em peixes (Santacruz-Reyes; Chien, 2010; Abdel-Tawwab *et al.*, 2021). Tais resultados se devem não apenas a presença de

saponinas esteroides em sua composição, mas também polifenóis e polissacarídeos, dentre os quais, o yuccaol A, B, C, D e E (trans-3,3',5,5'-tetrahidroxi-4' metoxistilbeno) e o resveratrol (trans-3,4',5 tetrahidroxiestilbeno) (Oleszek *et al.*, 2001; Piacente *et al.*, 2004; Piacente *et al.*, 2005).

O nome saponina deriva do latim *sapo*, que significa sabão. Isto, por apresentar propriedades surfactantes formando uma espuma estável, semelhante a sabão, ao serem agitados em solução aquosa. Quimicamente, o termo saponina define um grupo de glicosídeos de elevado peso molecular que consistem em uma porção glicana ligada a uma aglicona, também designada genina ou sapogenina (Hostettmann; Marston, 2005). A estrutura química da sapogenina define a classificação das saponinas como saponinas triterpenóides (30 átomos de carbono), que ocorrem principalmente na classe das *Magnoliopsida* (dicotiledôneas) e saponinas esteróides (27 átomos de carbono), que estão quase exclusivamente presentes na classe das *Liliopsida* (monocotiledôneas) (Sparg *et al.*, 2004).

Por apresentarem estruturas triterpenóides, substâncias que possuem capacidade em formar complexos insolúveis com lipídios presentes na dieta, pode haver prejuízo na emulsificação de gorduras e na formação de micelas com sais biliares e colesterol no intestino, o que pode aumentar a excreção, de forma que o animal não acumule gordura em sua carcaça (Oakenfull, 1986; Cheeke, 2000). Nas membranas celulares, o colesterol é organizado na forma de estruturas cinéticas ou “pools”. As saponinas, por meio de seus grupos OH, podem interagir com o colesterol e com os fosfolipídios da membrana celular. Além disso, sua estrutura esteroide hidrofóbica pode intercalar no interior hidrofóbico da bicamada lipídica. Ambos os efeitos podem contribuir para alterar a camada lipídica entorno da membrana e ativar receptores, canais ou enzimas específicas, podendo promover maior área de absorção e

resistência a célula (Attele *et al.*, 1999; Francis *et al.*, 2002b). Além disso, as saponinas têm uma porção antioxidante que permite a eliminação de ânions superóxidos, formando intermediários de hidróxido e, assim, evitar danos moleculares (Sparg *et al.*, 2004).

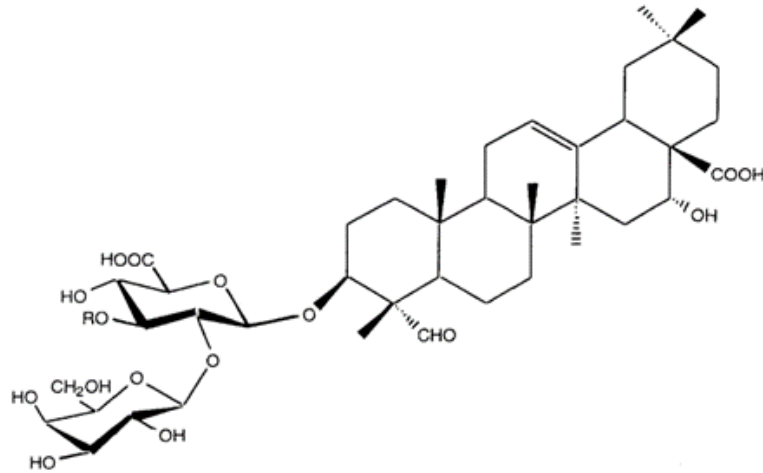


Figura 2: Estrutura de Saponina de *Quillaja saponaria*

(Guo *et al.*, 1998).

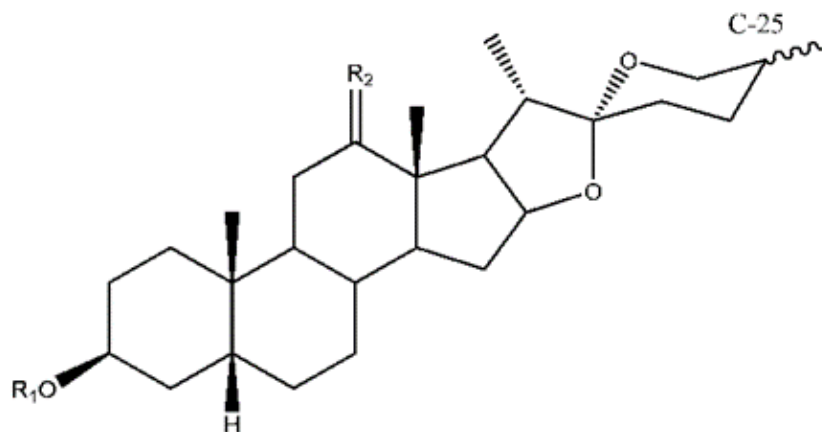


Figura 3: Estrutura de Saponina de *Yucca schidigera*

(Jiménez *et al.*, 2021).

GEE *et al.* (1996) enfatizaram que o aumento da permeabilidade aparente das bordas em escova intestinais promovido por baixas doses de saponinas pode ter importantes implicações na absorção de macromoléculas, cuja passagem através do epitélio é normalmente restrita. JOHNSON *et al.* (1986) propuseram que algumas saponinas reagem com o colesterol das membranas do microvilos, causando lesões estruturais, proporcionando o aumento da permeabilidade dos enterócitos, facilitando a absorção de substâncias que normalmente não

seriam absorvidas. Outro fator benéfico à suplementação de saponinas é que possuem a capacidade de promover a secreção de enzimas digestivas como por exemplo a amilase, lipase, lactato desidrogenase e citocromo c oxidase (Güroy *et al.*, 2016; Serrano, 2013; Wang *et al.*, 2020). SERRANO (2013) observou que o consumo de saponinas por carpas (*Cyprinus carpio*) propiciou aumento no ganho de peso, taxa de crescimento específico, eficiência proteica e atividade das enzimas intestinais, tais como amilase e tripsina, bem como enzimas do fígado, lactato desidrogenase e citocromo c-oxidase.

CHEN *et al.* (2011) aventaram a hipótese de que peixes alimentados com dietas suplementadas com baixas doses de saponinas podem apresentar melhores resultados para ganho de peso devido a melhor taxa de absorção de nutrientes pelo intestino, induzida pela maior permeabilidade dos enterócitos, consequência da ação das saponinas. Isto se dá por baixas doses (<1000ppm) de extratos de plantas que possuem saponinas e apresentam impacto benéfico no crescimento dos peixes, enquanto doses elevadas contribuem para o desenvolvimento de enterite. Tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com 100 mg kg⁻¹ de saponinas apresentaram melhores resultados nos parâmetros zootécnicos, comparados à peixes alimentados com dietas suplementadas com 140 e 200 mg kg⁻¹ (El-Keredy; Naena, 2020).

A suplementação de 150 mg kg⁻¹ de saponina promoveu o crescimento dos peixes e a maior absorção de nutrientes em carpa comum (Francis *et al.*, 2002a). Tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com 300 mg kg⁻¹ de saponina por 14 semanas, apresentaram taxa de crescimento 26% maior em comparação à dieta ausente de suplementação. Os índices hepatossomático e o intestinosomático foram reduzidos de acordo com o aumento do nível de saponina na dieta e, concomitantemente, demonstraram menor excreção de energia pelas fezes, o que indicou o uso mais eficiente do alimento (Francis *et al.*, 2001b).

FRANCIS *et al.* (2005) afirmaram que as saponinas agem como promotores de crescimento naturais e que podem ser vastamente utilizadas na aquicultura, pois reduzem a taxa metabólica e promovem o crescimento de peixes, como descrito para a carpa e a tilápia-do-Nilo. A suplementação de 150 mg kg^{-1} de saponinas de *Quillaja saponaria* inibiu a produção de ovos de tilápia-do-Nilo (Francis *et al.*, 2002a,b,c) promovendo, assim, o direcionamento do metabolismo energético para a produção de tecido (filé). ANGELES *et al.* (2017) demonstraram que houve maior ganho de peso para a tilápia-do-Nilo alimentada por seis semanas com dietas suplementadas com a associação de 150 mg kg^{-1} de *Quillaja saponaria* e 150 mg kg^{-1} de *Yucca schidigera*. A associação de *Yucca schidigera* e/ou à levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi avaliada por ABDEL-TAWWAB *et al.* (2021). Os autores avaliaram as respostas da tilápia-do-Nilo quando os produtos foram colocados na água dos tanques (1 g/m^3) durante oito semanas. Houve efeito positivo para ganho de peso quando da associação de *Yucca schidigera* e levedura. Entretanto, já foi descrito que as saponinas provenientes de *Quillaja saponaria* e *Yucca schidigera* quando em altas concentrações na água podem ser consideradas letais devido a sua característica de danificar o epitélio branquial dos peixes (Makkar *et al.*, 2007).

De modo oposto, a suplementação dietética combinada de *Quillaja saponaria* e *Yucca schidigera* determinou efeitos negativos nos parâmetros zootécnicos como, ganho de peso, peso final e taxa de crescimento específico para camarões (Hernández-Acosta *et al.*, 2016) e tilápia-do-Nilo (Angeles *et al.*, 2017). Estudos demonstraram que a suplementação dietética de 3 g kg^{-1} de saponinas de *Quillaja saponaria*, em dietas à base de farelo de soja, determinaram redução significativa no ganho de peso, e também danos intestinais para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e salmão (*Salmo salar*) (Bureau *et al.*, 1998). Resultado semelhante foi associado a suplementação de 2 g kg^{-1} de saponinas de soja em dietas contendo 33% de concentrado proteico de ervilha para salmões alimentados por 11 semanas (Chikwati *et al.*, 2012). O mesmo nível de suplementação quando fornecido durante a primeira fase de alimentação para alevinos

de tilápia-do-Nilo, acarretou alta mortalidade do lote (Makkar *et al.*, 2007). Tais efeitos negativos foram também reportados com a suplementação de 3,2 g kg⁻¹ saponinas de soja em dietas a base de farinha de peixe (Chen *et al.*, 2011).

Outro aditivo funcional com importante relevância no cenário atual são os prebióticos, substâncias não digeríveis que permitem alterações específicas na composição e/ou na atividade da microbiota intestinal, o que pode promover efeito positivo na absorção de nutrientes e na saúde (Ringo *et al.*, 2014). Tal composto é utilizado como substrato energético pelas bactérias do intestino, e podem ser considerados como sacarídeos funcionais (Roberfroid, 1993; Song *et al.*, 2014). Os prebióticos são aditivos promissores e apresentam efeitos benéficos no desempenho, saúde da microbiota intestinal, melhora da morfologia intestinal, melhora da imunidade e, conseqüentemente, maior resistência a agentes patogênicos (Ganguly *et al.*, 2013; Daniels; Hoseinifar, 2014; Ringo *et al.*, 2010, 2014; Song *et al.*, 2014; Torrecillas *et al.*, 2014; Dawood *et al.*, 2015a, b). Além disso, a suplementação de prebióticos pode promover maior produção de metabolitos como o propionato, butirato e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) pela microbiota que, conseqüentemente, podem ser utilizados pelas células imunitárias do intestino (Bach Knudsen *et al.*, 2003). Em geral, estudos demonstraram que a suplementação de prebióticos promovem significativamente o desempenho e a eficiência alimentar de diferentes espécies de peixes (Mahious *et al.*, 2006; LV *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2015).

A parede celular de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que atua na saúde e na redução dos impactos do estresse. A parede celular da levedura é uma rede dinâmica de polissacáridos e glicoproteínas que estão ligados entre si por interações covalentes e não covalentes. A sua composição é constituída principalmente por mananoligossacarídeos (MOS) que estão contidos na camada exterior, β -glucanos e, em menor proporção, por quitina, que compreende a camada interior. O uso de dietas enriquecidas com MOS e β -glucano apresenta relação custo-benefício comprovada, podendo ser utilizado por piscicultores de pequeno e grande porte e pode

determinar vários benefícios, desde o melhor desempenho dos peixes até o aumento das respostas imunológicas (Kim *et al.*, 2009; Carbone; Faggio, 2016; Dawood *et al.*, 2017a, b; Ji *et al.*, 2017; Iswarya *et al.*, 2018; Van Doan *et al.*, 2020). Os MOS são complexos glucomanano proteicos derivados da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, estão entre os prebióticos mais comuns avaliados nos peixes (Merrifield *et al.*, 2010). Dietas suplementadas com MOS (1 g kg⁻¹ e 1,5 g kg⁻¹) promoveram a eficiência alimentar e o ganho de peso de carpas quando arraçadas durante oito semanas (Ebrahimi *et al.*, 2012). O mesmo para ganho de peso foi relatado por RODRIGUES-ESTRADA *et al.* (2009) para truta-arco-íris suplementadas por 4 g kg⁻¹. Entretanto, não foram relatadas diferenças em relação ao grupo controle quando salmões-do-Atlântico foram alimentados com dietas suplementadas com 10 g kg⁻¹ durante quatro meses (Grisdale-Helland *et al.*, 2008).

Tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com β-glucano, apresentaram maior ganho de peso, melhor morfologia intestinal, melhor resposta imunológica e, conseqüentemente, maior resistência quando submetidas a estresse por densidade (Welker *et al.*, 2012; Dawood *et al.*, 2020). A melhora no ganho de peso foi igualmente observada para *Pseudosciaena crocea* quando arraçados com dietas suplementadas por 90 mg kg⁻¹ de β-glucano (Ai *et al.*, 2007). Por outro lado, a suplementação de três níveis de β-glucano, baixo (38 g kg⁻¹), médio (52 g kg⁻¹) e alto (82 g kg⁻¹), em dietas para *Oncorhynchus mykiss* proporcionaram redução na taxa de crescimento específico (Sealey *et al.*, 2008). Concomitantemente, estudos anteriores demonstraram que a suplementação de β-glucano ou mananoligossacarídeos não determinaram efeitos positivos no ganho de peso de tilápias-do-Nilo (Whittington *et al.*, 2005; Sado *et al.*, 2008; Shelby *et al.*, 2009; Barros *et al.*, 2014).

2. Sistema antioxidante em peixes

Todos os organismos aeróbicos, incluindo aqueles que vivem em ambientes aquáticos, necessitam de oxigênio (O₂), sendo que tal molécula desempenha papel vital em vários

processos metabólicos e também na produção de energia (Ahmad, 1995). Quando ocorre a redução parcial do oxigênio são gerados intermediários reativos, denominados de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs) (Figura 4). Dentre as EROs, as mais relevantes e ativas do ponto de vista fisiológico são o radical ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Cadenas, 1995; Schieber; Chande, 2014; Halliwell; Gutteridge, 2015). As EROs primordialmente formadas são, em geral, o radical ânion superóxido (O_2^-), sendo que sua produção ocorre principalmente nas mitocôndrias pela cadeia respiratória, com função de gerar energia na forma de adenosina trifosfato. O O_2^- gerado nas células desencadeia diversas reações químicas, afetando funções biológicas. A eliminação do O_2^- é de responsabilidade da superóxido dismutase (SOD), amplamente encontrada tanto nas mitocôndrias (Mn^{2+} SOD) quanto no citosol (Cu^{2+} SOD e Zn^{2+} SOD) (Cao *et al.*, 2019). Esta enzima catalisa a dissociação de duas moléculas de O_2^- em H_2O_2 . Na ausência da SOD, esse radical livre leva à formação do radical hidroxila (OH^-) (Halliwell; Gutteridge, 2015; LI *et al.*, 2016). O OH^- é caracterizado por apresentar meia vida extremamente curta e é considerado a EROs mais reativa e prejudicial. Uma vez que não existe antioxidante capaz de prevenir a ação do OH^- , somente é possível inibir a sua formação ou reparar os danos resultantes da sua ação (Schieber; Chande, 2014).

Por outro lado, o H_2O_2 é produzido abundantemente na matriz mitocondrial durante o processo de redução do O_2^- . O peróxido de hidrogênio pode ser parcialmente eliminado por diversas enzimas, incluindo a catalase (CAT) que é encontrada tanto nas mitocôndrias quanto nos peroxissomos, a qual catalisa a decomposição do H_2O_2 em H_2O e O_2 , mantendo o equilíbrio de formação e eliminação de EROs, essencial para o funcionamento da imunidade inata (Devi *et al.*, 2019). A glutathiona peroxidase (GPx) também age na decomposição do H_2O_2 em H_2O , além de ser restabelecida à sua forma reduzida pela ação da glutathiona redutase (GR), via nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), e também desempenha papel importante

na prevenção da peroxidação lipídica da membrana celular (Monteiro *et al.*, 2006; Fukai, Ushio-Fukai, 2011).

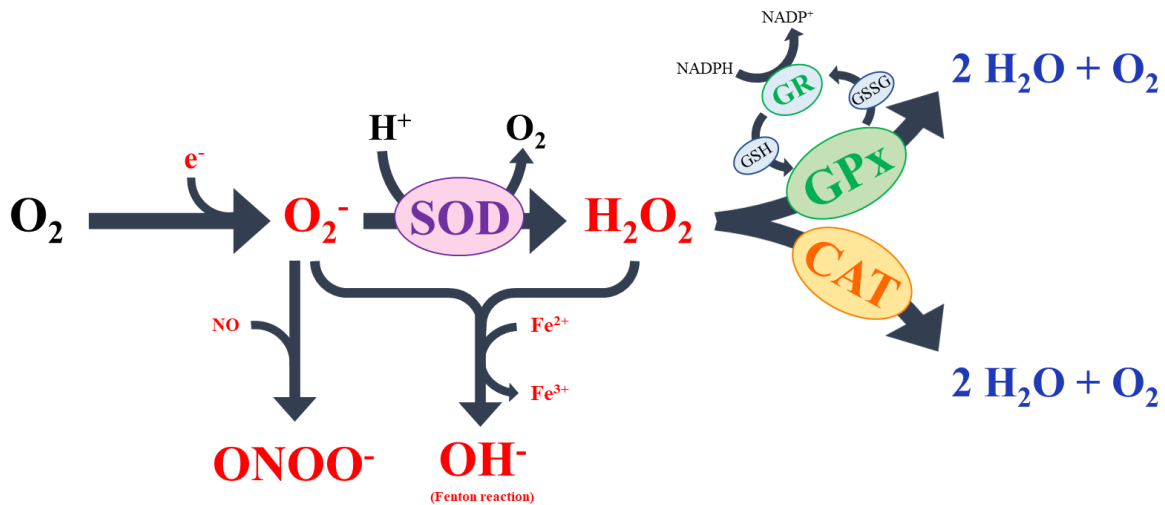


Figura 4: Sistema antioxidante adaptado de Fukai, Ushio-Fukai, 2011.

Devido à sua natureza, o H_2O_2 apresenta meia vida mais longa em comparação com a maioria das EROs e é capaz de atravessar facilmente membranas, podendo ser liberado no citoplasma celular. Na presença de íons metálicos com valência variável, o H_2O_2 pode ser convertido no altamente reativo OH^- (Dong *et al.*, 2017). Em circunstâncias fisiológicas normais, as EROs desempenham diversas funções, como na defesa do animal (por exemplo, defesa contra microrganismos patogênicos) e nas múltiplas vias de sinalização celular (Martínez-Álvarez *et al.*, 2005). Em concentrações baixas a moderadas, as EROs não causam danos, mas em concentrações elevadas induzem modificações negativas nos componentes celulares, como lipídios, proteínas e DNA. Especificamente, as EROs podem induzir a peroxidação lipídica de ácidos graxos poliinsaturados, levando ao rompimento da bicamada lipídica da membrana e à alteração da estrutura e permeabilidade da membrana (Hematyar *et al.*, 2019). Por fim, para evitar o desequilíbrio na produção de EROs, os organismos aeróbicos podem reduzir a formação de EROs ou reduzir a alta reatividade desses compostos por meio de

componentes antioxidantes, produzidos pela célula (fonte endógena) ou obtidos por meio da dieta (fonte exógena) (Wang *et al.*, 2013; Franco; Martínez-Pinilla, 2017).

Como exemplo de fonte exógena de antioxidantes, as saponinas presentes na *Quillaja saponaria* e *Yucca schidigera* apresentam tais características, devido ao elevado teor de polifenóis, como por exemplo os flavan-3-ols, que tem como característica estabilizar e eliminar a produção excessiva de EROs, prevenindo possíveis danos a célula dos peixes, como por exemplo, a prevenção da peroxidação lipídica, aumento da atividade da SOD, CAT, GPx e mieloperoxidase (Martínez-Álvarez *et al.*, 2005; Cigerci *et al.*, 2009; Bae *et al.*, 2020; Elbially *et al.*, 2020; Abdel-Tawwab *et al.*, 2021; Dawood *et al.*, 2021; Peng *et al.*, 2022). ANGELES *et al.* (2017) encontraram melhores taxas de sobrevivência para tilápia-do-Nilo arraçoada com dietas suplementadas com *Quillaja saponaria* e *Yucca schidigera* e desafiadas por hipóxia. Carpas espelho (*Cyprinus carpio*) demonstraram melhor capacidade antioxidante total e menores níveis de malonaldeído (MDA) quando arraçadas com dietas suplementadas com *Yucca schidigera*, entretanto não foi observada diferença na atividade da SOD (Wang *et al.*, 2020). Resultados positivos em relação a atividade da SOD foram observados para tilápia-do-Nilo, sendo que peixes arraçados com dietas suplementadas pela mistura de *Quillaja saponaria* e *Yucca schidigera* demonstraram atividade 48% menor da SOD em relação ao grupo controle, devido a capacidade antioxidante (Angeles *et al.*, 2017).

Outros componentes antioxidantes obtidos por meio da dieta são o MOS e o β -glucano. A suplementação de 45 g kg⁻¹ de MOS em dietas para tilápia-do-Nilo determinaram aumento significativo da atividade das enzimas SOD, CAT e GPx, além de reduzir a peroxidação lipídica (Özlüer-Hunt *et al.*, 2011). Igualmente, o β -glucano além de apresentar características de modulação e produção de enzimas do sistema antioxidante, pode promover a expressão do gene HSP70, o qual está relacionado ao estresse celular (Salah *et al.*, 2017; Pogue *et al.*, 2021; Reis *et al.*, 2021), como também, pode sequestrar radicais livres (Kofuji *et al.*, 2012; Zhang *et al.*,

2022). A suplementação de 4 g kg⁻¹ de β -glucano em dietas para tilápias-do-Nilo promoveu maior expressão de genes relacionados as enzimas SOD e CAT e reduziu os níveis de MDA quando os peixes foram submetidos a desafio por intoxicação por Fipronil (El-Murr *et al.*, 2019). Quando alimentadas com dietas suplementadas com 5 g kg⁻¹ de β -glucano e desafiadas por intoxicação com deltametrina, foi observada redução dos danos ocasionados pelo estresse (Dawood *et al.*, 2020).

3. Resposta imunológica em peixes

A função imunológica dos peixes ocorre de duas maneiras, via imunidade inata e via imunidade adaptativa. A primeira linha de defesa dos peixes contra agentes patogênicos são as barreiras físicas como escamas, pele e brânquias, as quais são envoltas por mucosa e contem lisozima, enzima responsável pela degradação da parede peptidoglicano de agentes patogênicos, protegendo o animal contra possíveis infecções (Manning, 1998).

Assumindo a hipótese de que o agente patogênico adentre por tais barreiras, será desencadeada a resposta imune inata, conhecida também como não específica. Tal resposta é mediada nos primeiros minutos após infecção por duas subdivisões: resposta imune inata celular e resposta imune inata humoral (Alberts *et al.*, 2012). Como parte da resposta imune inata humoral, esta representada principalmente pelo sistema complemento, o qual pode ser considerado como uma das respostas não celulares mais eficiente do sistema imune. Tal sistema engloba mais de 35 proteínas que além de contribuírem na resposta imune inata, contribuem com a resposta imune adaptativa. O sistema complemento pode ser ativado por três diferentes vias: clássica (ligação anticorpo – antígeno), lectina (moléculas de lectinas que se ligam a carboidratos da membrana patogênica) e alternativa (reconhecimento de padrões moleculares associados a agentes patogênicos - PMAAPs). Tais vias tem função de lisar os agentes patogênicos por meio da formação de complexos de ataque a membrana (CAM), promover a inflamação no local da infecção e opsonizar os agentes patogênicos por meio de ligações com

imunoglobulinas (via imunidade adaptativa) ou por fragmentos do complemento na superfície patogênica, favorecendo a fagocitose (Abbas *et al.*, 2012).

Ao mesmo tempo é desencadeada a resposta imune inata celular, os neutrófilos compõem o grupo das primeiras células de defesa a chegarem ao local da infecção. Estas células são ativadas por meio das PMAAPs, sem o reconhecimento e sem capacidade de gerar memória imunológica, promovendo a liberação de citocinas e lise celular de células infectadas (Greenlee *et al.*, 1991). A partir do momento que entram em contato com o agente patogênico, identificam os PMAAPs por meio de suas proteínas transmembranas, conhecidas como receptores tipo toll (RTTs), e então fagocitam o agente patogênico e promovem a explosão respiratória (*Burst*), induzindo a produção de espécies reativas ao oxigênio (EROs) como O_2^- , H_2O_2 , OH^- e óxido nítrico (ON) (Akhter *et al.*, 2015). Após este processo e a respectiva morte do neutrófilo, ocorre a liberação de citocinas inflamatórias, que sinalizam a localidade da infecção e, por quimiotaxia estimulam a vinda e ação dos então monócitos (Secombes; Fletcher, 1992).

Os monócitos assim que saem da corrente sanguínea e chegam ao local, passam a ser macrófagos, que por sua vez, são as principais células fagocitárias da imunidade inata celular. Diferentemente dos neutrófilos, que morrem devido ao gasto energético após a fagocitose, os macrófagos após englobar o agente patogênico promovem o burst e produção de espécies reativas ao oxigênio e nitrogênio, além da liberação de citocinas inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral (TNF) e interleucinas (IL-1 - IL-12) (Abbas *et al.*, 2012). Com a liberação de citocinas do tipo TNF, estas se ligam a receptores que estimulam a liberação de transferrinas. Estas por sua vez, se ligam a moléculas de ferro (Fe^{3+}) tornando-as indisponíveis para a multiplicação de agentes patogênicos, como bactérias por exemplo (Chen *et al.*, 2009). Não se limitando apenas à ação de fagocitar agentes patogênicos, os macrófagos também atuam na reparação tecidual, como regeneração de tecidos e vasos por exemplo (Secombes; Fletcher, 1992).

A resposta imune adaptativa, ou comumente conhecida como resposta imune específica, tem como característica a alta especificidade e a capacidade de gerar memória contra agentes patogênicos (Secombes *et al.*, 2008). Os macrófagos que por sua vez fagocitam o agente patogênico, processam e apresentam o antígeno para células dendríticas, como outros macrófagos e linfócitos B, isto através de receptores para antígenos endógenos, conhecidos como complexo de histocompatibilidade maior classe II (CHMII), com a geração de citocinas específicas, estas estimulam linfócitos B a se diferenciarem em plasmócitos, para a produção de anticorpos específicos contra tal patógeno, além de gerar linfócitos B de memória que possuem alta durabilidade para rápida ação contra possíveis reinfecções frente aos mesmos agentes patogênicos que induziram sua produção (Secombes *et al.*, 2008). Paralelamente, os linfócitos T auxiliares (CD4), reconhecem este antígeno e liberam citocinas, estimulando a ação de outros macrófagos e linfócitos T citotóxicos (CD8,) que por sua vez reconhecem a célula infectada via complexo de histocompatibilidade maior classe I (CHMI), promovendo a apoptose (Secombes; Fletcher, 1992). Como forma de promover a imunidade dos peixes, de modo que não seja necessário a utilização de antimicrobianos para combater possíveis agentes patogênicos, a utilização de suplementos alimentares com propriedades imunoestimulantes ganhou popularidade nas últimas décadas (Dawood *et al.*, 2018; Dawood *et al.*, 2019; Van Doan *et al.*, 2019a).

A suplementação de saponinas na alimentação de peixes pode promover melhora do sistema imunológico, visto que saponinas provenientes de *Quillaja saponaria* podem desencadear marcadores imunológicos (como células T CD8), estimular a resposta inata e adaptativa para possíveis infecções, induzindo diretamente macrófagos e células dendríticas, e a expressão de diferentes citocinas, mesmo quando os peixes não apresentam sinais de infecções (Welsby *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2020; Cortés *et al.*, 2023).

Tilápias-do-Nilo arraçadas com dietas suplementadas com 100 mg kg^{-1} de saponinas de *Yucca schidigera* apresentaram maior atividade da lisozima e do burst respiratório e maior resistência a infecção por *Aeromonas hydrophila* (Njagi *et al.*, 2017). Para a mesma espécie, também arraçadas com dietas suplementadas com o mesmo tipo de saponinas, foram relatadas menores taxas de mortalidade quando da infecção por *Pseudomonas aeruginosa* e comparado ao grupo controle (El-Keredy; Naena, 2020). BAE *et al.* (2020) verificaram que linguado verde-oliva (*Paralichthys olivaceus*) arraçados com dietas suplementadas com $1,5 \text{ g kg}^{-1}$ de saponinas de *Yucca schidigera* apresentaram melhores resultados para o burst respiratório e maior taxa de sobrevivência.

Os prebióticos são definidos como fibras indigestas que promovem a população e colonização da microbiota intestinal benéfica, resultando na melhoria do estado geral de saúde (Song *et al.*, 2014). Prebióticos, como levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que possui MOS e β -glucano em sua composição, são comumente utilizados e cada vez mais aplicados na aquicultura como agentes imunomoduladores (Ringo *et al.*, 2010; Ringo *et al.*, 2014; Hoseinifar *et al.*, 2015; Dawood; Koshio, 2016; Dawood *et al.*, 2020). Em geral, estudos demonstraram que os prebióticos modularam as respostas fisiológicas dos peixes contra fatores estressantes (Torrecillas *et al.*, 2012). Também possuem papel significativos na eficiência das respostas humorais (Chang *et al.*, 2013) e na imunidade inata dos peixes (Serradell *et al.*, 2020; Barros *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014).

STAYKOV *et al.* (2007) observaram que dieta suplementadas com 2 g kg^{-1} de MOS promoveu maior atividade da lisozima e do sistema complemento de truta arco-íris. O mesmo parâmetro foi relatado em estudo com tambor vermelho (*Sciaenops ocellatus*) arraçados com dietas suplementadas com 10 g kg^{-1} durante oito semanas (Zhou *et al.*, 2010) e seis semanas (Buentello *et al.*, 2010). Entretanto, o mesmo nível foi prejudicial para a atividade da lisozima em salmões do atlântico (Grisdale-Helland *et al.*, 2008).

Os β -glucanos em sua forma livre, têm sido utilizados como imunostimulantes para espécies aquáticas (Dawood *et al.*, 2015b; Dawood; Koshio 2016). Esses compostos geralmente influenciam a resposta imunológica, incluindo a produção de radicais oxidativos por neutrófilos no sangue e na produção de ânions superóxidos em macrófagos (Gatlin, 2002). Os β -glucanos são compostos por monômeros de D-glicose, unidos por ligações β -glicosídicas e são notórios pela habilidade em estimular o sistema imunológico (Ringo *et al.*, 2011; Volman *et al.*, 2008). Estudos anteriores demonstraram que o β -glucano pode se ligar a padrões moleculares associados a agentes patogênicos (PMAAPs) específicos para induzir a resposta imune, além de promover atividades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias (Dawood *et al.*, 2020; Miao *et al.*, 2020).

A utilização de β -glucanos na suplementação de dietas tem sido associado ao aumento da imunidade específica e não específica em espécies de peixes, como *Danio rerio* (Rodríguez *et al.*, 2009) e *Larimichthys polyactis* (Rodríguez *et al.*, 2003). Efeito imunostimulador do β -glucanos foi relatado para *Sciaenops ocellatus* em experimento conduzido *in vitro* e *in vivo* (Yamamoto *et al.*, 2018). ENGSTAD *et al.* (1992) constataram maiores níveis de lisozima quando alevinos/jovens de salmão-do-Atlântico foram inoculados com 1 ml de β -glucanos. O mesmo foi observado para rohu (*Labeo rohita*) (Misra *et al.*, 2006) e *Pseudosciaena crocea* (Ai *et al.*, 2007).

HASAN *et al.* (2018) avaliaram a suplementação de β -glucanos durante oito semanas para linguado verde-oliva (*Paralichthys olivaceus*), e encontraram maiores expressões de TNF, IL1 e IL6 nos fígados, rins e baços. Melhores níveis de lisozima, imunoglobulina (IgM) e sistema complemento foram encontradas em truta arco-íris alimentadas com dietas suplementadas com 2 g kg⁻¹ de β -glucanos (Ghaedi *et al.*, 2015). Foi demonstrado que dietas suplementadas com β -glucanos isolado ou com a associação de spirulina, promoveram a recuperação da atividade fagocitária pós inibição da mesma por ação de inseticida (Abu-Elala

et al., 2020; Mokhbatly *et al.*, 2020). Dentre a suplementação de dietas com o β -glucanos, VERLHAC *et al.* (1998), ao avaliarem a suplementação de β -glucanos isoladamente e de sua associação com vitamina C, tais compostos promoveram a atividade fagocitária e a ação da lisozima para truta arco-íris.

A suplementação de β -glucanos em dietas para tilápias-do-Nilo promoveram a função imune de modo geral, como no aumento da ativação do sistema complemento (Amphan *et al.*, 2019), e quando estas foram desafiadas por infecção por *Aeromonas hydrophila* demonstraram melhores níveis de lisozima (Lu *et al.*, 2019). Dentro do mesmo cenário anterior, tilápias-do-Nilo apresentaram maiores índices de fagocitose, entretanto, tal efeito foi constatado apenas quando os peixes foram alimentados com dietas suplementadas com β -glucanos em semanas alternadas, e não quando alimentados constantemente durante o período de duas ou quatro semanas (Barros *et al.*, 2014; Petit, 2019).

Entretanto, OGIER DE BAULNY *et al.* (1996) afirmam que a suplementação de β -glucano em dietas para *Scophthalmus maximus* administradas por longos períodos não determinaram efeito significativo na atividade do sistema complemento e na atividade da lisozima. Da mesma forma, SABIONI *et al.* (2020) não encontraram diferenças significativas na atividade do sistema complemento quando comparados os parâmetros antes e após desafio por infecção por *Aeromonas hydrophila* para pacus (*Piaractus mesopotamicus*). Os autores concluíram que tais resultados se devem ao efeito imunossupressor dos níveis de cortisol encontrado nos peixes. Contudo, a suplementação de 1 g kg^{-1} de β -glucanos em dietas para tilápias-do-Nilo e salmão do atlântico, não promoveram alterações na expressão de genes correlacionadas com o sistema imunológico (Rodríguez *et al.*, 2016; Salah *et al.*, 2017).

Os efeitos contraditórios sobre a suplementação de β -glucanos em dietas para peixes pode ser justificado pelas diferentes doses, período de alimentação ou fase da vida do peixe. Além disso, os β -glucanos comerciais possuem diferentes métodos de processamento, bem como

fonte (fungos e bactérias), o que pode levar a diferentes atividades e resultados, no que se refere ao sistema imunológico (Ai *et al.*, 2007; Bridle *et al.*, 2005; Ringo *et al.*, 2010).

4. Saúde intestinal em peixes

Como anteriormente citado, as barreiras físicas como escamas, pele e brânquias constituem a primeira linha de defesa dos peixes contra agentes patogênicos (Manning, 1998). Aliado a tais barreiras e apontado como um dos indicadores mais importantes de saúde, o intestino é considerado o maior órgão imunológico dos peixes. A saúde intestinal tem ligação direta com a função fisiológica, pois afeta a taxa de absorção dos nutrientes e energia, como também a função imunológica (Zhang *et al.*, 2019), além de ser considerado como tecido linfóide de peixes (Boschi *et al.*, 2011).

As células epiteliais do intestino, os enterócitos, possuem a função de barreira física contra agentes patogênicos (Liu *et al.*, 2020c). Os enterócitos se unem por meio de junções intercelulares, como por exemplo, o complexo de junções apicais (CJA) (Tsukita *et al.*, 2001). A integridade e o desempenho de tal barreira dependem do CJA, que é composto por junções oclusivas (JOs), ou como conhecidas do inglês *tight junctions*, e as junções aderentes (JAs), os desmossomos (Gonzalez-Mariscal *et al.*, 2003; Wheelock; Johnson, 2003). Os complexos constituídos de proteínas das JOs são bem conhecidos por incluir as zônulas de oclusão (ZOs), que possuem proteínas como claudinas e ocludinas (Chen *et al.*, 2017; Schneeberger, 2004; Tsukita *et al.*, 2001), enquanto as JAs consistem em proteínas de transmembranas, como as caderinas (Ogita; Takai, 2010; Wheelock; Johnson, 2003). Essas junções desempenham papel fundamental na regulação da permeabilidade do intestino dos peixes, logo, é necessário a avaliação da morfologia intestinal para detectar possíveis lesões e implicações (Niklasson *et al.*, 2011; Chamorro *et al.*, 2019). Portanto, a saúde dos peixes está diretamente ligada à saúde intestinal, pois o aumento da permeabilidade intestinal, seja devido a ação de componentes nutricionais ou estresse, pode suprimir a absorção de nutrientes e, possivelmente, reduzir o

ganho de peso, além de proporcionar maior risco de translocação de toxinas, parasitas e agentes patogênicos (Sundh *et al.*, 2010; Grenier; Applegate, 2013; Shi *et al.*, 2017).

Como método para a avaliação da saúde intestinal dos animais, a fluoresceína isotiocianato–dextrana (FITC-d) tem sido utilizada como indicador para a avaliação da permeabilidade intestinal (Napolitano *et al.*, 1996). Os dextranos são polissacáridos não digeríveis com tamanhos moleculares que variam entre 3-kDa e 2000-kDa (Wang *et al.*, 2015; Woting; Blaut, 2018). O FITC-d com tamanho molecular de 4-kDa é o mais utilizado atualmente em aves, por ser suficientemente grande e não atravessar a barreira epitelial intestinal em grandes quantidades após a administração oral, a menos que a barreira intestinal esteja comprometida (Gilani *et al.*, 2017b). Em contrapartida, as moléculas menores (<300 Da) podem atravessar passivamente as JOs (Sun *et al.*, 1998). No entanto, a inflamação ou lesão do epitélio intestinal podem induzir a disfunção da barreira, resultando em distúrbios que aumentam a migração da molécula FITC-d para a camada serosa do intestino e, subsequentemente, na circulação (Yan *et al.*, 2009; Condette *et al.*, 2014). Como agente auxiliador da saúde intestinal, DAWOOD *et al.*, (2021) observaram que suplementação dietética de saponinas para carpa comum promoveu a integridade da parede intestinal, melhorando as alturas e espessuras das vilosidades.

O intestino dos peixes contém vários tipos de células imunocompetentes que são responsáveis pela eliminação dos agentes patogênicos (Balcázar *et al.*, 2006; Nie *et al.*, 2017). A microbiota intestinal dos peixes também auxilia na proteção contra a colonização e multiplicação de agentes patogênicos (Gómez; Balcázar, 2008). Em geral, a ingestão dietética de prebióticos promove maior número de bactérias benéficas (*Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*) e menor número de bactérias patogênicas (*Vibrio spp.* ou *Aeromonas spp.*) (Ringo *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2014; Torrecillas *et al.*, 2014). Os β -glucanos são

benéficos tanto por seus efeitos nas células intestinais dos peixes, quanto pelas interações com as bactérias benéficas (Murphy *et al.*, 2020).

Os β -glucanos ao chegarem no intestino dos peixes via ração, estimulam os enterócitos epiteliais a sintetizarem apolipoproteína A-IV (APOA4), a qual está relacionada com o metabolismo dos carboidratos e lipídeos, que provavelmente captura o β -glucano e o conduz para a circulação. A actina está permanentemente presente nas microvilosidades intestinais, que juntamente com a transgelina participam na captação do β -glucano dependente da actina (Kiron *et al.*, 2016). Além disso, a presença de RTTs nos enterócitos pode promover o reconhecimento do β -glucano (Lauriano *et al.*, 2016). Quando os β -glucanos adentram na circulação são reconhecidos por certos receptores, como as lectinas encontradas nas células imunes inatas e, juntamente com a tirosina quinase, geram a transdução de sinal intracelular pelas vias das proteínas quinases ativadas por mitógenos e TNF (Kiron *et al.*, 2016; Pietretti *et al.*, 2013; Angulo *et al.*, 2018).

Tanto as saponinas, como o MOS e β -glucano são comumente utilizados de forma isolada, ou associados com outros produtos, na suplementação de dietas para peixes, pois podem promover o desempenho, resistência a doenças e absorção de nutrientes. Contudo, a associação de saponinas, polifenóis, MOS e β -glucano ainda não foi documentada até a presente data. Portanto, o presente estudo tem por objetivo avaliar os efeitos da suplementação dietética dos aditivos eubióticos à base da mistura de diferentes fontes de saponinas e polifenóis e à base de parede celular de levedura, de forma isolada e conjunta nos parâmetros zootécnicos, no coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes, energia e minerais, e na morfologia intestinal, como também, na capacidade antioxidante, perfil hematológico, no estado imunológico de tilápias-do-Nilo frente a estresse por classificação de tamanho, infecção por *Streptococcus agalactiae* e infecção por *Streptococcus agalactiae* + 12 horas de hipóxia.

O Capítulo II, denominado “Effects of *Quillaja saponaria*, *Yucca schidigera* and *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance and health of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to different types of stress” foi redigido de acordo com as normas para publicação do periódico Aquaculture (fator de impacto 5.135).

5. Referências bibliográficas

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. Cellular and molecular immunology. 7. ed. Philadelphia, PA: **Saunders Elsevier**, 2012.

ABDEL-LATIF, H.M.R.; DAWOOD, M.A.O.; MENANTEAU-LEDOUBLE, S.; EL MATBOULI, M. The nature and consequences of co-infections in tilapia: a review. **Journal of Fish Diseases**, [S.l.], 2020. <https://doi.org/10.1111/jfd.13164>

ABDEL-TAWWAB, M. Interactive effects of dietary protein and live bakery yeast, *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fry and their challenge against *Aeromonas hydrophila* infection. **Aquaculture International**, v. 20, p. 317–331, 2012.

ABDEL-TAWWAB, M.; EL-ASHRAM, A.M.; TAHOUN, A.-A.; ABDEL-RAZEK, N.; AWAD, S.M.M. Effects of dietary sweet basil (*Ocimum basilicum*) oil on the performance, antioxidants and immunity welfare, and resistance of Indian shrimp (*Penaeus indicus*) against *Vibrio parahaemolyticus* infection. **Aquaculture Nutrition**, v. 27, p. 1244–1254, 2021.

ABDEL-WAHHAB, M. A.; HASSAN, A. M.; ALY, S. E.; MAHROUS, K. F. Adsorption of sterigmatocystin by montmorillonite and inhibition of its genotoxicity in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 582, p. 20–27, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.12.009>

ABU-ELALA, N. M.; YOUNIS, N. A.; ABUBAKR, H. O.; RAGAA, N. M.; BORGES, L. L.; BONATO, M. A. Influence of dietary fermented *Saccharomyces cerevisiae* on growth

performance, oxidative stress parameters, and immune response of cultured *Oreochromis niloticus*. **Fish physiology and biochemistry**, v. 46, p. 533-545, 2020.

AHMAD, S. Preface. In: Ahmad S, editor. Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. New York: **Chapman & Hall**, p. 11–17. 1995.

AI Q., MAI K., ZHANG L., TAN B., ZHANG W., XU W., LI H. Effects of dietary β -1,3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 22, p. 394–402, 2007.

AKANMU, O.A. Probiotics, an alternative measure to chemotherapy in fish production. In: **Probiotics: Current Knowledge and Future Prospects**, p. 151. 2018.

AKHTER, N.; WU, B.; MEMON, A. M.; MOHSIN, M. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 45, p. 733–741. 2015.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; WALTER, P.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; LEWIS, J. Molecular biology of the cell. **Taylor & Francis**, 2012.

ALY, S.M. A Review of Fish Diseases in the Egyptian Aquaculture Sector. **Working Report. World Fish**, Penang, Malaysia, pp. 1–41. 2013.

AMPHAN, S.; UNAJAK, S.; PRINTRAKOON, C.; AREECHON, N. Feeding regimen of β -glucan to enhance innate immunity and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* Linn., against *Aeromonas hydrophila* and *Flavobacterium columnare*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 87, p. 120–128, 2019.

ANGELES, I. P. JR.; GALLEGO, L. M.; NAVARRO, M. A.; CHIEN, Y. H. Dietary effects of *Quillaja saponaria* and *Yucca schidigera* extract on rearing performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. And its antioxidant capacity and metabolic response following hypoxic stress. **International Journal of Agricultural Technology**, v. 13, p 2249–2266, 2017.

ANGULO, C.; SANCHEZ, V.; DELGADO, K.; REYES-BECERRIL, M. C-type lectin 17A and macrophage-expressed receptor genes are magnified by fungal β -glucan after *Vibrio*

parahaemolyticus infection in *Totoaba macdonaldi* cells. **Immunobiology**, v. 224, p. 102–109, 2018.

AOAC. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists. 17th ed. Gaithersburg, MD: AOAC, 2000.

ARENDS, R. J.; MANCERA, J. M.; MUÑOZ, J. L.; WENDELAAR BONGA, S.E.; FLIK, G. The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. **Journal of Endocrinology**, v. 163, p. 149–157, 1999.

ATTELE, A. S.; WU, J. A.; YUAN, C. S. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. **Biochemical Pharmacology**, v. 58, p. 1685–1693, 1999.

BACH KNUDSEN, K. E.; SERENA, A.; CANIBE, N.; JUNTUNEN, K. S. New insight into butyrate metabolism. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, p. 81–86, 2003.

BAE, J.; HAMIDOGHLI, A.; WON, S.; CHOI, W.; LIM, S.-G.; KIM, K.-W.; LEE, B.-J.; HUR, S.-W.; BAI, S.C. Evaluation of seven different functional feed additives in a low fish meal diet for olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v. 525, p. 735333, 2020.

BALCÁZAR, J. L.; VENDRELL, D.; DE BLAS, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; GIRONÉS, O.; MUZQUIZ, J. L. Immune modulation by probiotic strains: Quantification of phagocytosis of *Aeromonas salmonicida* by leukocytes isolated from gut of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using a radiolabelling assay. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 29(5–6), p. 335–343, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2006.09.004>.

BARHAM, W.T.; SCHOOBEE, H.; SMIT, G.L. The occurrence of *Aeromonas* sp. and *Streptococcus* spp. in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal of Fish Biology**, v. 15, p. 457–460, 1979.

BARROS, M. M., FALCON, D. R., ORSI, R. O., PEZZATO, L. E., FERNANDES JR., A. C., GUIMARAES, I. G., FERNANDES JR., A., PADOVANI, C. R., SARTORI, M. M. Non-

specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed beta-glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 39, p. 188–195, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.004>.

BARROS, M.M., FALCON, D.R., ORSI, R.O., PEZZATO, L.E., FERNANDES JUNIOR, A.C., SARTORI, M. M. Immunomodulatory effects of dietary β -glucan and vitamin C in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., subjected to cold-induced stress or bacterial challenge. **J. World Aquaculture Society**, v. 46, p. 363–380, 2015. <https://doi.org/10.1111/jwas.12202>

BOSCHI, I.; RANDELLI, E.; BUONOCORE, F.; CASANI, D.; BERNINI, C.; FAUSTO, A. M.; SCAPIGLIATI, G. Transcription of T cell-related genes in teleost fish, and the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) as a model. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 31, n. 5, p. 655–662. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2010.10.001>

BRIDLE A., CARTER C., MORRISON R., NOWAK B. The effect of β -glucan administration on macrophage respiratory burst activity and Atlantic salmon, *Salmo salar* L., challenged with amoebic gill disease – evidence of inherent resistance. **Journal of Fish Diseases**, v. 28, p. 347–356, 2005.

BROMAGE, E.S., & OWENS, L. Infection of barramundi *Lates calcarifer* with *Streptococcus iniae*: Effect of different routes of exposure. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 52, p. 199–205, 2002.

BUENTELLO, J. A.; NEILL, W. H.; GATLIN III, D. M. Effects of dietary prebiotics on the growth, feed efficiency and non-specific immunity of juvenile red drum. *Sciaenops ocellatus* fed soybean-based diets. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 411–418. 2010.

BULFON, C., VOLPATTI, D., GALEOTTI, M. Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. **Aquaculture Research**, v. 46, p. 513–551, 2015.

BULLOCK, G.L. Streptococcal infections of fishes. Fish Disease Leaflet, p. 1-7, 1981.

BUREAU, D.P., HARRIS, A.M., CHO, C.Y. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 161, p. 27–43, 1998.

BURRIDGE, L. WEIS, J.S., CABELLO, F., PIZARRO, J., BOSTICK, K. Chemical use in salmon aquaculture: a review of current practices and possible environmental effects. **Aquaculture**, v. 306(1), p. 7–23, 2010.

CABELLO, F.C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. **Environmental Microbiology**, v. 8, p. 1137–1144, 2006.

CADENAS, E. Mechanisms of oxygen activation and reactive oxygen species detoxification. In: Ahmad S, editor. Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. New York: **Chapman & Hall**, 1995. p. 1–46.

CAO, H.; YU, R.; ZHANG, Y.; HU, B.; JIAN, S.; WEN, C.; KAJBAF, K.; KUMAR, V.; YANG, G. Effects of dietary supplementation with β -glucan and *Bacillus subtilis* on growth, fillet quality, immune capacity, and antioxidant status of Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. *Pengze*). **Aquaculture**, v. 508, p. 106–112, 2019. doi:10.1016/j.aquaculture.2019.04.064

CARBONE, D.; FAGGIO, C. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 54, p. 172–178, 2016.

CHAMORRO, S.; ROMERO, C.; BRENES, A.; SANCHEZ-PATAN, F.; BARTOLOME, B.; VIVEROS, A.; ARIJA, I. Impact of a sustained consumption of grape extract on digestion, gut microbial metabolism and intestinal barrier in broiler chickens. **Food & Function**, v. 10, p. 1444–1454, 2019.

- CHANG, C.-S.; HUANG, S.-L.; CHEN, S.; CHEN, S.-N. Innate immune responses and efficacy of using mushroom beta-glucan mixture (MBG) on orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, aquaculture. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 35, p. 115–125. 2013.
- CHEEKE, P. R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1-10, 2000.
- CHEEKE, P.R.; PIACENTE, S.; OLESZEK, W. Anti-inflammatory and anti-arthritic effects of *Yucca schidigera*: a review. **Journal of Inflammation**, v. 3, p. 6, 2006.
<https://doi.org/10.1186/1476-9255-3-6>
- CHEN, J.; WANG, J.; MEYERS, K. R.; ENNS, C. A. Transferrin-directed internalization and cycling of transferrin receptor 2. **Traffic**, v. 10, n. 10, p. 1488–1501, 2009.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.00961.x>
- CHEN, Q.; CHEN, O.; MARTINS, I.M.; HOU, H.; ZHAO, X.; BLUMBERG, J.B.; LI, B. Collagen peptides ameliorate intestinal epithelial barrier dysfunction in immunostimulatory Caco-2 cell monolayers via enhancing tight junctions. **Food & Function**, v. 8, p. 1144–1151, 2017.
- CHEN, W.; AI, Q.H.; MAI, K.S.; XU, W.; LIUFU, Z.G.; ZHANG, W.B.; CAI, Y.H. Effects of dietary soybean saponins on feed intake, growth performance, digestibility and intestinal structure in juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture**, v. 318, p. 95–100, 2011.
- CHEN, Y.; ZHU, X.; YANG, Y.; HAN, D.; JIN, J.; XIE, S. Effect of dietary chitosan on growth performance, haematology, immune response, intestine morphology, intestine microbiota and disease resistance in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). **Aquaculture Nutrition**, v. 20, p. 532–546, 2014.
- CHIKWATI, E.M.; VENOLD, F.F.; PENN, M.H.; ROHLOFF, J.; REFSTIE, S.; GUTTVIK, A.; HILLESTAD, M.; KROGDAHL, A. Interaction of soyasaponins with plant ingredients in

diets for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. **British Journal of Nutrition**, v. 107, p. 1570–1590, 2012.

CIGERCI, I. H.; FIDAN, A. F.; KONUK, M.; YUKSEL, H.; KUCUKKURT, I.; ERYAVUZ, A.; SOZBILIR, N. B. The protective potential of *Yucca schidigera* (Sarsaponin 30[®]) against nitrite-induced oxidative stress in rats. **Journal of Natural Medicines**, v. 63, n. 3, p. 311–317, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11418-009-0338-4>

CONDETTE, C. J. H.; KHORSI-CAUET, P.; MORLIÈRE, L.; ZABIJAK, J.; REYGNER, V. BACH, J.; GAY-QUÉHEILLARD. Increased gut permeability and bacterial translocation after chronic chlorpyrifos exposure in rats. **PLoS One**, v. 9, p. e102217, 2014.

CORTÉS, H.; CASTILLO-RUIZ, M.; CAÑON-JONES, H.; SCHLOTTERBECK, T.; SAN MARTÍN, R.; PADILLA, L. In Vivo Efficacy of Purified Quillaja Saponin Extracts in Protecting against *Piscirickettsia salmonis* Infections in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Animals**, v. 13, p. 2845, 2023. <https://doi.org/10.3390/ani13182845>

CURRAS, M.; MAGARINOS, B.; TORANZO, A.E.; ROMALDE, J.L. Dormancy as a survival strategy of the fish pathogen *Streptococcus parauberis* in the marine environment. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 52, n. 2, p. 129–136, 2002. <https://doi.org/10.3354/dao052129>

DANIELS, C.; HOSEINIFAR, S.H. Prebiotic applications in shellfish. In: Merrifield DL, Ringo E (eds) **Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics**, p. 401–418. Wiley Blackwell Scientific Publication, Hoboken, NJ, 2014.

DAWOOD, M. A. GEWAILY, M. S., MONIER, M. N., YOUNIS, E. M., VAN DOAN, H., SEWILAM, H.. The regulatory roles of yucca extract on the growth rate, hepato-renal function, histopathological alterations, and immune-related genes in common carp exposed with acute ammonia stress. **Aquaculture**, v. 534, p. 736287, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736287>

DAWOOD, M. A. O. ABDO, S.E., GEWAILY, M.S., MOUSTAFA, E.M., SAADALLAH, M.S., ABDELKADER, M.F., HAMOUDA, A.H., OMAR, A.A., ALWAKEEL, R.A. The influence of dietary β -glucan on immune, transcriptomic, inflammatory and histopathology disorders caused by deltamethrin toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 98, p. 301–311, 2020.

DAWOOD, M. A. O. MAGOUZ, F. I.; SALEM, M. F. I.; ELBIALY, Z. I.; ABDEL-DAIM, H. A. Synergetic effects of *Lactobacillus plantarum* and beta-glucan on digestive enzyme activity, intestinal morphology, growth, fatty acid, and glucose-related gene expression of genetically improved farmed tilapia. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, [S.l.], 2019. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09552-7>

DAWOOD, M. A. O. Nutritional immunity of fish intestines: important insights for sustainable aquaculture. Rev. **Aquaculture**, [S.l.], 2020. <https://doi.org/10.1111/raq.12492>.

DAWOOD, M. A. O.; ABO-AL-ELA, H. G.; HASAN, M. T. Modulation o transcriptomic profile in aquatic animals: probiotics, prebiotics and synbiotics scenarios. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 97, p. 268–282, 2020.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S. Vitamin C supplementation to optimize growth, health and stress resistance in aquatic animals. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, p. 334–350, 2018.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; EL-SABAGH, M.; BILLAH, M. M.; ZAINELDIN, A.I., ZAYED, M.M.; OMAR, A. A. E.-D. Changes in the growth, humoral and mucosal immune responses following β -glucan and vitamin C administration in red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, v. 470, p. 214–222. 2017a.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; EL-SABAGH, M.; BILLAH, M. M.; ZAINELDIN, A.I., ZAYED, M.M.; OMAR, A. A. E.-D. Dietary supplementation of β - glucan improves growth performance, the innate immune response and stress resistance of red sea bream. *Pagrus major*. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, p. 148–159. 2017b.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; YOKOYAMA, S. Effects of heat killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) supplemental diets on growth performance, stress resistance and immune response of Red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, v. 442, p. 29–36. 2015a.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; YOKOYAMA, S. Interaction effects of dietary supplementation of heat-killed *Lactobacillus plantarum* and b-glucan on growth performance, digestibility and immune response of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 45, p. 33–42. 2015b.

DAWOOD, M.A.O., KOSHIO, S. Recent advances in the role of probiotics and

DEFOIRDT, T.; SORGELOOS, P.; BOSSIER, P. Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, p. 251–258, 2011.

DEVI G. HARIKRISHNAN R, PARAY BA, AL-SADOON MK, HOSEINIFAR SH, BALASUNDARAM C. Effect of symbiotic supplemented diet on innate-adaptive immune response, cytokine gene regulation and antioxidant property in *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 89, p. 687–700, 2019. doi:10.1016/j.fsi.2019.04.036

DING, C.; HE, J. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations. **Appl. Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, p. 925–941, 2010.

DONG, M. LIANG, Y., RAMALINGAM, R., TANG, S.W., SHEN, W., YE, R., GOPALAKRISHNAN, S., AU, D.W.T, LAM, Y.W. Proteomic characterization of the interactions between fish serum proteins and waterborne bacteria reveals the suppression of anti-oxidative defense as a serum-mediated antimicrobial mechanism. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 62, p. 96–106, 2017. doi:10.1016/j.fsi.2017.01.013

DRAMSI, S., CALIOT, E., BONNE, I., GUADAGNINI, S., PREVOST, M.C., KOJADINOVIC, M., LALIOUI, L., POYART, C., TRIEU-CUOT, P. Assembly and role of pili in group B streptococci. **Molecular Microbiology**, v. 60, p. 1401–1413, 2006.

EBRAHIMI, G. H.; OURAJI, H.; KHALES, M. K.; SUDAGAR, M.; BARARI, A.; ZAREI DANGESARAKI, M. Effects of a prebiotic, Immunogen[®], on feed utilization, body composition, immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 96, p. 591. 2012.

ELBIALY, Z. I., RIZK, M., AL-HAWARY, I. I., SALAH, A. S., MOHAMMED, R. A., ASSAR, D. H., ALMEER, R., & DAWOOD, M. A. *Yucca schidigera* extract mediated the growth performance, hepato-renal function, antioxidative status and histopathological alterations in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to hypoxia stress. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 2, p. 1965–1976, 2020.

ELDAR, A.; GHITTINO, C. *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: similar, but different diseases. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 36, n. 3, p. 227–231, 1999.

EL-KEREDY, M. S. A.; NAENA, N. A. A. *Yucca* plant as treatment for *Pseudomonas aeruginosa* infection in Nile tilapia farms with emphasis on its effect on growth performance. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, v. 66, p. 64, 2020.

EL-MURR, A.E.I., EL HAKIM, Y.A., NEAMAT-ALLAH, A.N.F., BAESHEN, M., ALI, H.A. Immune-protective, antioxidant and relative gene expression impacts of β -glucan against fipronil toxicity in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, [S.l.], 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.033>.

EL-SAYED, A.-F. M. Tilapia culture, the 2nd edition. San Diego: **Academic Press. Elsevier Science Publishing Co Inc.**, 2019.

ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, B.; FRIVOLD, E. Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 2, p. 287–297, 1992.

EYA, J. C.; PARSONS, A.; HAILE, I.; JAGIDI, P. Effects of dietary zeolites (bentonite and mordenite) on the performance juvenile rainbow trout, *Onchorhynchus myskiss*. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 2, n. 4, p. 961–967, 2008.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 2020.

FAO. The State of World Fisheries, and Aquaculture. Opportunities, and Challenges. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 2021.

FERNANDES, A.C., JR.; CARVALHO, P.L.P.F.C.; PEZZATO, L.E.; KOCH, J.F.A.; TEIXEIRA, C.P.; CINTRA, F.T.; DAMASCENO, F.M.; AMORIN, R.L.; PADOVANI, C.R.; BARROS, M.M. The effect of digestible protein to digestible energy ratio and choline supplementation on growth, hematological parameters, liver steatosis and size-sorting stress response in Nile tilapia under field condition. **Aquaculture**, v. 456, p. 83–93, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.001>.

FRANCIS, G., KEREM, Z., MAKKAR, H.P.S., BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems - a review. **British Journal of Nutrition**, v. 88, p. 587–605, 2002c.

FRANCIS, G., LEVAVI-SIVAN, B., AVITAN, A., BECKER, K. Effects of long term feeding of *Quillaja saponins* on sex ratio, muscle and serum cholesterol and LH levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus L.*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 133, n. 4, p. 591–601, 2002b.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Dietary supplementation with a *Quillaja saponin* mixture improve growth performance and metabolic efficiency in common carp. **Aquaculture**, v. 203, p. 311–320, 2002a.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Effects of *Quillaja saponins* on growth, metabolism, egg production, and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia

(*Oreochromis niloticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 129, n. 2, p. 105–114, 2001b.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P.; BECKER, K. *Quillaja saponins* - a natural growth promoter for fish. **Animal Feed Science and Technology**, v. 121, n. 1–2, p. 147–157, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.02.015>.

FRANCO, R.; MARTÍNEZ-PINILLA, E. Chemical rules on the assessment of antioxidant potential in food and food additives aimed at reducing oxidative stress and neurodegeneration. **Food Chemistry**, v. 235, p. 318–323, 2017. doi:10.1016/j.foodchem.2017.05.040

FREITAS, J. M. A., PERES, H., CARVALHO, P. L. P. F., FURUYA, W. M., SARTORI, M. M., PEZZATO, L. E., BARROS, M. M. Interactive effects of digestible protein levels on thermal and physical stress responses in Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 51, 2022. <https://doi.org/10.37496/rbz5120210067>

FUKAI, T., USHIO-FUKAI, M. Superoxide dismutase: role in redox signaling, vascular function, and disease. **Antioxidants and Redox Signaling**. 15(6):1583-1606, 2011. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.3999>

GANGULY, S., DORA, K.C., SARKAR, S., CHOWDHURY, S. Supplementation of prebiotics in fish feed: a review. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 23, p. 195–199, 2013.

GATLIN, D. M. Nutrition and fish health. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Eds.). *Fish Nutrition*. **San Diego: Academic Press**, p. 671–702. 2002.

GEE, J. M., WORTLEY, G. M., JOHNSON, I. T., PRICE, K. R.; RUTTEN, A. A. J. J. L., HOUBEN, G. F., PENNINKS, A. H. Effects of saponins and glycoalkaloids on the permeability and viability of mammalian intestinal cells and on the integrity of tissue preparations in vitro. **Toxicology in Vitro**, v. 10, p. 117-128, 1996.

GHAEDI, G., KEYVANSHOKOOH, S., AZARM, H.M., AKHLAGHI, M. Effects of dietary β -glucan on maternal immunity and fry quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 441, p. 78–83, 2015.

GILANI, S., G. S., HOWARTH, S. M., KITESSA, C. D., TRAN, R. E. A., FORDER, AND R. J., HUGHES. New biomarkers for increased intestinal permeability induced by dextran sodium sulphate and fasting in chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, p. e237-e245, 2017b.

GÓMEZ, G. D.; BALCÁZAR, J. L. A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 145–154, 2008. doi:10.1111/j.1574-695X.2007.00343.x

GONZALEZ-MARISCAL, L., BETANZOS, A., NAVA, P., JARAMILLO, B.E. Tight junction proteins. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 81, n. 1, p. 1–44, 2003.

GREENLEE, A. R.; BROWN, R. A.; RISTOW, S. S. Nonspecific cytotoxic cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) kill YAC-1 targets by both necrotic and apoptic mechanisms. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 15, p. 153-164, 1991. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(91\)90006-K](https://doi.org/10.1016/0145-305X(91)90006-K)

GRENIER, B.; APPLGATE, T. J. Modulation of intestinal functions following mycotoxin ingestion: Meta-analysis of published experiments in animals. **Toxins**, v. 5, p. 396-430, 2013.

GRISDALE-HELLAND, B.; HELLAND, S. J.; GATLIN III, D. M. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide, or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 283, p. 163– 167. 2008.

GRISDALE-HELLAND, B.; HELLAND, S. J.; GATLIN III, D. M. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide, or

galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 283:, p. 163– 167. 2008.

GUO, S., KENNE, L., LUNDGREN, L. N., RÖNNBERG, B., & SUNDQUIST, B. G. Triterpenoid saponins from *Quillaja saponaria*. **Phytochemistry**, 48(1), 175-180, 1998.

GÜROY, B., MANTOĞLU, S., MERRIFIELD, D. L., & GUROY, D. Effects of dietary Nutrafito Plus on growth, haematological parameters and total ammonia-nitrogen excretion of juvenile striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 6, p. 1770–1777, 2016.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford: **Oxford University Press**, 2015.

HARIKRISHNAN, R., BALASUNDARAM. C., HEO, M.S. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. **Aquaculture**, v. 317, n. 1, p. 1– 15, 2011.

HASAN, T., JANG, W.J., LEE, S., KIM, K.W., LEE, B.-J., HAN, H.-S., BAI, S.C., KONG, I.-S. Effect of β -glucoooligosaccharides as a new prebiotic for dietary supplementation in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) aquaculture. **Aquaculture Research**, v. 49, p. 1310–1319, 2018.

HASSAN, S.E., ABDEL-RAHMAN, M.A., MANSOUR, E., MONIR, W. Prevalence and antibiotic susceptibility of bacterial pathogens implicating the mortality of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 10, n. 1, p. 23–43, 2020.

HEMATYAR, N., RUSTAD, T., SAMPELS, S., KASTRUP DALSGAARD, T. Relationship between lipid and protein oxidation in fish. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 5, p. 1393–1403, 2019. doi:10.1111/are.14012

HERNÁNDEZ-ACOSTA, M., GUTIÉRREZ-SALAZAR, G. J., GUZMÁN-SÁENZ, F. M., AGUIRRE-GUZMÁN, G., ALVAREZ-GONZÁLEZ, C. A., LÓPEZ-ACEVEDO, E. A., & FITZSIMMONS, K. The effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* on growth performance and enzymes activities of juvenile shrimp, *Litopenaeus vannamei* cultured in low-salinity water. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 44, n. 1, p. 121–128, 2016.

doi:10.3856/vol44-issue1-fulltext-12

HOSEINIFAR, S.H., YOUSEFI, S., VAN DOAN, H., ASHOURI, G., GIOACCHINI, G., MARADONNA, F., CARNEVALI, O. Oxidative stress and antioxidant defense in fish: the implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 29, p. 198–217, 2021.

HOSHIBA, M. A.; GONÇALVES, F. D.; URBINATI, E. C. Respostas fisiológicas de estresse no matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exercício físico intenso durante a captura. **Acta Amazônica**, v. 39, n. 2, p. 445-452, 2009.

HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A. Saponins. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

HUANG, M.-Y.; CHANG, C.-I.; CHANG, C.-C.; TSENG, L.-W.; PAN, C.-L. Effects of dietary Levan on growth performance, nonspecific immunity, pathogen resistance and body composition of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides* H.). **Aquaculture Research**, v. 46, p. 2752–2767. 2015.

HUSSAIN, D.; MATEEN, A.; GATLIN III, D. M. Alleviation of aflatoxin B1 (AFB1) toxicity by calcium bentonite clay: effects on growth performance, condition indices and bioaccumulation of AFB1 residues in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 475, p. 8–15, 2007.

ISWARYA, A., VASEEHARAN, B., ANJUGAM, M., GOBI, N., DIVYA, M., FAGGIO, C. β -1, 3 glucan binding protein based selenium nanowire enhances the immune status of *Cyprinus*

carpio and protection against *Aeromonas hydrophila* infection. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 83, p. 61–75, 2018.

JAMI, M.J., ABEDIAN KENARI, A., PAKNEJAD, H., MOHSENI, M. Effects of dietary β -glucan, mannan oligosaccharide, *Lactobacillus plantarum* and their combinations on growth performance, immunity and immune related gene expression of Caspian trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 91, p. 202–208, 2019.

JANTRAKAJORN, SIRIPORN; MAISAK, HATAIRAT; WONGTAVATCHAI, JUMRUS. Comprehensive investigation of Streptococcosis outbreaks in cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, and red tilapia, *Oreochromis* spp., of Thailand. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, p. 392–402, 2014.

JENEY, GÁBOR; DE WET, LISETTE; JENEY, ZSUZSANNA; YIN, GUOQUAN. PLANT EXTRACTS. In: LEE, C.; LIM, C.; G, D. M.; WEBSTER, C. D. (Eds.). *Dietary Nutrients, Additives and Fish Health*. Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell, John Wiley & Sons, Inc, p. 321–331. 2015.

JI, LIAN; SUN, GUOXIANG; LI, JIAN; WANG, YONGAN; DU, YISHUAI; LI, XINYU; LIU, YAN. Effect of dietary β -glucan on growth, survival and regulation of immune processes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected by *Aeromonas salmonicida*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 64, p. 56–67, 2017.

JIMÉNEZ, G. G., DURÁN, A. G., MACÍAS, F. A., & SIMONET, A. M. Structure, bioactivity and analytical methods for the determination of *Yucca saponins*. **Molecules**, 26(17), 5251, 2021.

JIMÉNEZ, G.; DURÁN, A. G.; MACÍAS, F. A.; SIMONET, A. M. Structure, bioactivity and analytical methods for the determination of *Yucca saponins*. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5251. 2021.

JOHNSON, I. T., GEE, J. M., PRICE, K.; CURL, C, FENWICK, G. R. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro. **The Journal of Nutrition**, v. 116, p. 2270-2277, 1986.

KIM, YOUNG-SANG; KE, FEI; ZHANG, QING-YIN. Effect of β -glucan on activity of antioxidant enzymes and mx gene expression in virus infected grass carp. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 27, p. 336–340, 2009.

KIRON, V.; KULKARNI, A.; DAHLE, D.; VASANTH, G.; LOKESH, J.; ELVEBO, O. Recognition of purified beta 1,3/1,6 glucan and molecular signaling in the intestine of Atlantic salmon. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 56, p. 57–66, 2016.

KLESIOUS, P. H.; SHOEMAKER, C. A.; EVANS, J. J. Streptococcus: A worldwide fish health problem. In: 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Cairo, p. 83-107, 2008.

KOFUJI K, AOKI, A. TSUBAKI, K., KONISHI, M., ISOBE T., MURATA, Y. Antioxidant Activity of β -Glucan. **ISRN Pharm**, v.12, 2012. <https://doi.org/10.5402/2012/125864>

LALIOUI, L., PELLEGRINI, E., DRAMSI, S., BAPTISTA, M., BOURGEOIS, N., DOUCET-POPULAIRE, F., RUSNIOK, C., ZOUINE, M., GLASER, P., KUNST, F., POYART, C., TRIEU-CUOT, P. The SrtA Sortase of *Streptococcus agalactiae* is required for cell wall anchoring of proteins containing the LPXTG motif, for adhesion to epithelial cells, and for colonization of the mouse intestine. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 3342–3350, 2005.

LAURIANO, E.; PERGOLIZZI, S.; CAPILLO, G.; KUCIEL, M.; ALESCI, A.; FAGGIO, C. Immunohistochemical characterization of Toll-like receptor 2 in gut epithelial cells and macrophages of goldfish *Carassius auratus* fed with a high-cholesterol diet. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 59, p. 250–255, 2016.

LI H, JIANG W, LIU Y, JIANG J, ZHANG Y, WU P, ZHAO J, DUAN X, ZHOU X, FENG L. The metabolites of glutamine prevent hydroxyl radical-induced apoptosis through inhibiting

- mitochondria and calcium ion involved pathways in fish erythrocytes. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 92, p. 126–140, 2016. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.01.007
- LIU, X.W., FENG, L., JIANG, W.D., WU, P., YANG, D.M., TANG, L., KUANG, S.Y., SHI, H.Q., ZHOU, X.Q., LIU, Y. Novel insights into the intestinal immune regulatory effects of (2-Carboxyethyl) dimethylsulfonium bromide (Br-DMPT) in on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 98, p. 534–550, 2020.
- LU, D., LIMBU, S. M., LV, H., MA, Q., CHEN, L. The comparisons in protective mechanisms and efficiencies among dietary α -lipoic acid, β -glucan and L-carnitine on Nile tilapia infected by *Aeromonas hydrophila*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 86, p. 785-793, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.12.023>
- LV, H.; ZHOU, Z.; RUDEAUX, F.; RESPONDEK, F. Effects of dietary short chain fructooligosaccharides on intestinal microflora, mortality and growth performance of *Oreochromis aureus*♂ \times *O. niloticus*♀. **Chin. J. Animal Nutrition.**, v. 19, p. 691–697. 2007.
- MAHIOUS, A.; GATESOUBE, F.; HERVI, M.; METAILLER, R.; OLLEVIER, F. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). **Aquaculture International**, v. 14, p. 219–229. 2006.
- MAIER, C.; CONRAD, J.; CARLE, R.; WEISS, J.; SCHWEIGGERT, R. M. Phenolic Constituents in Commercial Aqueous Quillaja (*Quillaja saponaria* Molina) Wood Extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 1756–1762. 2015.
- MAKKAR, H. P. S.; FRANCIS, G.; BECKER, K. Bioactivity of phytochemicals in some lesser known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. **Animal**, v. 1, p. 1371–1391, 2007.
- MANNING, M. J. Immune defense systems. In: BLACK, K. D.; PICKERING, A. D. (Eds.). **Biology of Farmed Fish**. Sheffield Academic Press, Sheffield, UK, pp. 180–221, 1998.

- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, R.M.; MORALES, A.E.; SANZ, A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 15(1/2), p. 75–88. 2005. doi:10.1007/s11160-005-7846-4
- MERRIFIELD, D. L.; DIMITROGLOU, A.; FOEY, A.; DAVIES, S. J.; BAKER, R. T. M.; BOGWALD, J.; RINGO, E. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. **Aquaculture**, v. 302, p. 1–18. 2010.
- MIAO, S., HAN, B., ZHAO, C., HU, J., ZHU, J., ZHANG, X., SUN, L. Effects of dietary *Pediococcus acidilactici* GY2 single or combined with *Saccharomyces cerevisiae* or/and β -glucan on the growth, innate immunity response and disease resistance of *Macrobrachium rosenbergii*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 98, p. 68–76, 2020.
- MISRA, C. K., B. K. DAS, S. C. MUKHERJEE, P. PATTNAIK. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. **Aquaculture**, v. 255, p. 82–94, 2006.
- MOKHBATLY, A-A.A., ASSAR, D.H., GHAZY, E.W., ELBIALY, Z., RIZK, S.A., OMAR, A.A., GAAFAR, A.Y., DAWOOD, M.A.O. The protective role of spirulina and b-glucan in African catfish (*Clarias gariepinus*) against chronic toxicity of *chlorpyrifos*: *hematobiochemistry*, histopathology, and oxidative stress traits. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 27, p. 31636–31651, 2020.
- MONTEIRO, D.A., ALMEIDA, J.A., RANTIN, F.T., KALININ, A.L. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). **Comparative Biochemistry and Physiology C**, v. 143(2), p. 141–149, 2006.
- MURPHY, E.J., REZOAGLI, E., MAJOR, I., ROWAN, N.J., LAFFEY, J.G. b-Glucan metabolic and immunomodulatory properties and potential for clinical application. **J Fungi (Basel)**, v. 6, 2020.

NALIATO, R.F., CARVALHO, P.L.P.F., VICENTE, I.S.T., XAVIER, W.D.S., GUIMARÃES, M.G., RODRIGUES, E.J.D., ITO, P.I., SARTORI, M.M.P., BONFIM, F.P.G., ORSI, R.D.O. Ginger (*Zingiber officinale*) powder improves growth performance and immune response but shows limited antioxidant capacity for Nile tilapia infected with *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture Nutrition**, v. 27, n. 3, p. 850–864, 2021.

NAPOLITANO, L. M., M. J., KORUDA, A. A., MEYER, AND C. C., BAKER. The impact of femur fracture with associated soft tissue injury on immune function and intestinal permeability. **Shock**, v. 5, p. 202-207, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient Requirements of Fishes and Shrimp. Washington, DC: **National Academies Press**, 376p. 2011.

NIE, L., ZHOU, Q. J., QIAO, Y., & CHEN, J. Interplay between the gut microbiota and immune responses of ayu (*Plecoglossus altivelis*) during *Vibrio anguillarum* infection. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 68, p. 479–487, 2017.

NIKLASSON, L., SUNDH, H., FRIDELL, F., TARANGER, G.L., SUNDELL, K. Disturbance of the intestinal mucosal immune system of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*), in response to long-term hypoxic conditions. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 31, p. 1072–1080, 2011.

NJAGI, G. W., LEE, S., WON, S., HONG, J., HAMIDOGHLI, A., & BAI, S. C. Effects of dietary Yucca meal on growth, haematology, non-specific immune responses and disease resistance of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). **Aquaculture Research**, v. 48, n. 8, p. 4399–4408, 2017.

non-specific immunity of juvenile ovate pompano, *Trachinotus ovatus* and its disease

OAKENFULL, D. Aggregation of Saponins and Bile Acids in Aqueous Solution. **Australian Journal of Chemistry**, v. 39, pp. 1671-1683, 1986.

OGIER DE BAULNY M., QUENTEL C., FOURNIER V., LAMOUR F., LE GOUVELLO R. Effect of long-term oral administration of beta-glucan as an immunostimulant or an adjuvant

on some non-specific parameters of the immune response of turbot *Scophthalmus maximus*.

Diseases of Aquatic Organisms, v. 26, p. 139–147, 1996.

OGITA, H.; TAKAI, Y. Nectins and nectin-like molecules: roles in cell adhesion, polarization, movement, and proliferation. **IUBMB Life**, v. 58, p. 334–343, 2010.

OLESZEK, W.; SITEK, M.; STOCHMAL, A.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; CHEEKE, P. Resveratrol and other phenolics from the bark of *Yucca schidigera* Roehl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49: p. 747–752. 2001.

OLIVA-TELES, A. Nutrition and health of aquaculture fish. **The Journal of Fish Disease**, v. 35, p. 83–108, 2012.

ÖZLÜER-HUNT, A.; BERKOZ OZKAN, M. F.; YALIN, S.; ERCEN, Z.; ERDOGAN, E; GUNDUZ, S. G. Effect of mannan oligosaccharide on growth, body composition, and antioxidant enzyme activity of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Israeli Journal of Aquaculture**, v. 63, p. 619–627. 2011.

PEIXES BR. Anuário brasileiro da piscicultura peixes BR 2023. **Associação brasileira da piscicultura**, 2023.

PENG, K.; XIAOHUI, L.; HONGXIA, Z.; BING, C.; XIAOYING, C.; WEN, H. Antioxidant and intestinal recovery function of condensed tannins in *Lateolabrax maculatus* responded to in vivo and in vitro oxidative stress. **Aquaculture**, v. 547, 2022.

PEREIRA, U.P., MIAN, G.F., OLIVEIRA, I.C., BENCHETRIT, L.C., COSTA, G.M., FIGUEIREDO, H.C. Genotyping of *Streptococcus agalactiae* strains isolated from fish, human and cattle and their virulence potential in Nile tilapia. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 186–192, 2010.

PETIT J, EMBREGTS CWE, FORLENZA M, WIEGERTJES GF. Evidence of trained immunity in a fish: conserved features in carp macrophages. **The Journal of Immunology**, v. 203, p. 216–224, 2019.

- PIACENTE, S.; MONTORO, P.; OLESZEK, W.; PIZZA, C. *Yucca schidigera* bark: phenolic constituents and antioxidant activity. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 882–885. 2004.
- PIACENTE, S.; PIZZA, C.; OLESZEK, W. Saponins and phenolics of *Yucca schidigera* Roetzl: chemistry and bioactivity. **Phytochem Reviews**, v. 4, p. 177–190. 2005
- PIETRETTI, D., VERA-JIMENEZ, N., HOOLE, D., WIEGERTJES, G. Oxidative burst and nitric oxide responses in carp macrophages induced by zymosan, MacroGard[®] and selective dectin-1 agonists suggest recognition by multiple pattern recognition receptors. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 35, p. 847–857, 2013.
- POGUE, R., MURPHY, E. J., FEHRENBACH, G. W., REZOAGLI, E., ROWAN, N. J. Exploiting immunomodulatory properties of β -glucans derived from natural products for improving health and sustainability in aquaculture-farmed organisms: Concise review of existing knowledge, innovation and future opportunities. **Environmental Science & Health**, v. 21, n. 100248, 2021.
- prebiotics in carp aquaculture: a review. *Aquaculture*, v. 454, p. 243–251. 2016.
- RASHIDIAN, G., KAJBAF, K., PROKIĆ, M.D., FAGGIO, C. β -glucan mimics tissue damage signaling and generates a trade-off between head kidney and spleen to activate acquired immunity in vaccinated tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 117, p. 179-187, 2021.
- RASHIDIAN, G.; KAJBAF, K.; PROKIĆ, M. D.; FAGGIO, C. Extract of common mallow (*Malva sylvestris*) enhances growth, immunity, and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings against *Yersinia ruckeri* infection. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 96, p. 254–261, 2020.
- REIS, I. C., FIERRO-CASTRO, C., GONÇALVES, G. S., MOROIZATO, B. S., TORT, L., BILLER, J. D. β -glucan mimics tissue damage signaling and generates a trade-off between head

kidney and spleen to activate acquired immunity in vaccinated tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Fish & Shellfish Immunology, v. 117, p. 179-187, 2021.

RINGØ, E., DIMITROGLOU, A., HOSEINIFAR, S.H., DAVIES, S.J. Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: a review. **Journal of Marine Science: Research and Development**, v. 2, p. 1–22, 2011.

RINGO, E., ERIK OLSEN, R., GONZALEZ VECINO, J., WADSWORTH, S. Prebiotics in finfish: an update. **Aquaculture Nutrition**, p. 360–400, 2014.

RINGO, E.; OLSEN, R. E.; GIFSTAD, T. O.; DALMO, R. A.; AMLUND, H.; HEMRE, G.-I.; BAKKE, A.M. Prebiotics in aquaculture: a review. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, p. 117-136, 2010.

ROBERFROID, M. Dietary fibre, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, p. 103–148, 1993.

RODRIGUES-ESTRADA, U.; SATOH, S.; HAGA, Y.; FUSHIMI, H.; SWEETMAN, J. Studies of the effects of mannan-oligosaccharides, *Enterococcus faecalis*, and polyhydrobutyric acid as immune stimulant and growth promoting ingredients in rainbow trout diets. **5th World Fisheries Congress**, Yokohama, Japan, October 20–25. Abstract 2d-1–5, 158pp. 2008.

RODRIGUEZ, A., CUESTA, A., ORTUÑO, J., ESTEBAN, M.A., MESEGUER, J. Immunostimulant properties of a cell wall-modified whole *Saccharomyces cerevisiae* strain administered by diet to seabream (*Sparus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 96, p. 183–192, 2003.

RODRÍGUEZ, I., CHAMORRO, R., NOVOA, B., FIGUERAS, A. β -Glucan administration enhances disease resistance and some innate immune responses in zebrafish (*Danio rerio*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 27, p. 369–373, 2009.

ROMERO J, FEIJO CG, NAVARRETE P. Antibiotics in Aquaculture- Use, Abuse and Alternatives. **INTECH Open Access Publisher**, 2012.

SABIONI RE, ZANUZZO FS, GIMBO RY, URBINATI EC. β -Glucan enhances respiratory activity of leukocytes suppressed by stress and modulates blood glucose levels in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 629–640, 2020.

SADO, R. J., A. J. D. A. BICUDO, AND J. E. P. CYRNO. Feeding dietary mannan oligosaccharide to juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 39, p. 821–826, 2008.

SALAH, A. S., EL NAHAS, A. F., & MAHMOUD, S. Modulatory effect of different doses of β -1, 3/1, 6-glucan on the expression of antioxidant, inflammatory, stress and immune-related genes of *Oreochromis niloticus* challenged with *Streptococcus iniae*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 70, p. 204–213, 2017.

SALVADOR, R., MULLER, E.E., FREITAS, J.C., LEONHADT, J.H., GIORDANO, L.G.P., & DIAS, J.A. Isolation and characterization of Streptococcus spp. group B in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in hapas nets and earth nurseries in the northern region of Parana State, Brazil. **Ciencia Rural. Santa Maria**, v. 35, p. 1374-1378, 2005.

SAN MARTÍN, R.; BRIONES, R. Quality Control of Commercial Quillaja (*Quillaja saponaria* Molina) Extracts by Reverse Phase HPLC. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 2063–2068. 2000.

SANTACRUZ-REYES, R. A.; CHIEN, Y.-H. Ammonia reduction in seawater by *Yucca schidigera* extract: Efficacy analysis and empirical modelling. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 1221–1228. 2010.

SARHADI, I., ALIZADEH, E., AHMADIFAR, E., ADINEH, H., DAWOOD, M.A.O. Skin mucosal, serum immunity and antioxidant capacity of common carp (*Cyprinus carpio*) fed artemisia (*Artemisia annua*). **Annals of Animal Science**, 2020.

SCHIEBER, M.; CHANDE, N. S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. **Current Biology**, v. 24, n. 10, p. R453–R462, 2014.

SCHNEEBERGER, E. E. The tight junction: a multifunctional complex. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 286, p. 1213–1228, 2004.

SEALEY W., BARROWS F., HANG A., JOHANSEN K., OVERTURF K., LAPATRA S., HARDY R. Evaluation of the ability of barley genotypes containing different amounts of β -glucan to alter growth and disease resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 141, p. 115–128, 2008.

SECOMBES, C. J.; FLECHER, T. C. The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 2, p. 53-71, 1992.

SECOMBES, C. Will advances in fish immunology change vaccination strategies? **Fish & Shellfish Immunology**, v. 25, p. 409–416, 2008.

SERRADELL, A.; TORRECILLAS, S.; MAKOL, A.; VALDENEGRO, V.; FERNANDEZ-MONTERO, A.; ACOSTA, F.; MONTERO, D. Prebiotics and phytochemicals functional additives in low fish meal and fish oil based diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effects on stress and immune responses. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 100, p. 219–229. 2020.

SERRANO, A. E. Effects of *Quillaja saponins* on growth, feed efficiency, digestive enzyme activities and metabolism of common carp (*Cyprinus carpio* L). **Aquaculture Nutrition**, v. 19, p. 468–474, 2013.

SHELBY, R. A., C. LIM, M. YILDIRIM-AKSOY, T. L. WELKER, AND P. H. KLESZIUS. Effects of yeast oligosaccharide diet supplements on growth and disease resistance in juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 21, p. 1–11, 2009.

- SHI, X., LUO, Z., CHEN, F., WEI, C.C., WU, K., ZHU, X.M., LIU, X. Effect of fish meal replacement by chlorella meal with dietary cellulase addition on growth performance, digestive enzymatic activities, histology and myogenic genes' expression for crucian carp *Carassius auratus*. **Aquaculture Research**, v. 48, p. 3244–3256, 2017.
- SOLTANI, M., PIRALI, E., SHAYAN, P., ECKERT, B., ROUHOLAHI, S., SADR, S.N. Development of a reverse line blot hybridization method for detection of some Streptococcal/Lactococcal species, the causative agents of zoonotic Streptococcosis/Lactococcosis in farmed fish. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 4, n. 2, p. 70–74, 2012.
- SONG, S.K., BECK, B.R., KIM, D., PARK, J., KIM, J., KIM, H.D., RINGO, E. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 40, p. 40–48, 2014.
- SPARG, S. G.; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 219–243, 2004.
- STAYKOV, Y.; SPRING, P.; DENEV, S.; SWEETMAN, J. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture International**, v. 15, p. 153–161. 2007.
- STEICA, G.; MOREA, A. Physiological effects of natural zeolites in fish feed. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies**, v. 70, n. 2, p. 395–396, 2013.
- SUANYUK, N., KONG, F., KO, D., GILBERT, G.L., SUPAMATTAYA, K. Occurrence of rare genotypes of *Streptococcus agalactiae* in cultured red tilapia *Oreochromis* sp. and Nile tilapia *O. niloticus* in Thailand-relationship to human isolates? **Aquaculture**, v. 285, p. 35–40, 2008.

SUN, Z. X.; WANG, R.; ANDERSSON, R. Role of intestinal permeability in monitoring mucosal barrier function. History, methodology, and significance of pathophysiology.

Digestive Surgery, v. 15, p. 386-97, 1998.

SUNDH, H., KVAMME, B.O., FRIDELL, F., OLSEN, R.E., ELLIS, T., TARANGER, G.L., SUNDELL, K. Intestinal barrier function of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) post smolts is reduced by common sea cage environments and suggested as a possible physiological welfare indicator.

BMC Physiol., v. 10, p. 1–13, 2010.

TORRECILLAS, S., A. MAKOL, M. J. CABALLERO, D. MONTERO, L. ROBAINA, F. REAL, AND J. SWEETMAN. Immune stimulation and improved infection resistance in European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides.

Fish & Shellfish Immunology, v. 23, p. 969–981, 2007.

TORT, L. Stress and immune modulation in fish. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 35, pp. 1366–1375, 2011.

TSUZUKI, M. Y.; OGAWA, K.; STRÜSSMANN, C. A.; MAITA, M.; TAKASHIMA, F. Physiological responses after stress and subsequent recovery at different salinities in adults pejerrey *Odontesthes bonariensis*. **Aquaculture**, v. 200, p. 349-362, 2001. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00573-1.

USHA, R.; EFFECT, J.; HRUBEC, T. C.; SMITH, S. A. Hematology of fishes. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. Hematology of fishes. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed. Wiley-Blackwell: Ames, v. 126, p. 994-1003, 2011.

VAN DOAN, H., HOSEINIFAR, S.H., RINGØ, E., ÁNGELES ESTEBAN, M., DADAR, M., DAWOOD, M.A.O., FAGGIO, C. Host-associated probiotics: a key factor in sustainable aquaculture. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 28, p. 16–42, 2020.

VAN DOAN, H., HOSEINIFAR, S.H., SRINGARM, K., JATURASITHA, S., YUANGSOI, B., DAWOOD, M.A.O., ESTEBAN, M.Á., RINGØ, E., FAGGIO, C. Effects of Assam tea

extract on growth, skin mucus, serum immunity and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Streptococcus agalactiae* **Fish & Shellfish Immunology**, v. 93, p. 428–435, 2019.

VANECCI-SILVA, D., ASSANE, I. M., ALVES, L. O., GOMES, F. C., MORO, E. B., KOTZENT, S., PITONDO-SILVA A., PILARSKI, F. *Klebsiella pneumoniae* causing mass mortality in juvenile Nile tilapia in Brazil: Isolation, characterization, pathogenicity and phylogenetic relationship with other environmental and pathogenic strains from livestock and human sources. **Aquaculture**, v. 546, p. 737376, 2022. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.737376.

VERLHAC V., OBACH A., GABAUDAN J., SCHUEP W., HOLE R. Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 8, p. 409–424, 1998.

VICENTE, I. S.; FLEURI, L. F.; CARVALHO, P. L.; GUIMARÃES, M. G.; NALIATO, R. F.; MÜLLER, H. D. C.; SARTORI, M. M. P.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M. Orange peel fragment improves antioxidant capacity and haematological profile of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress. **Aquaculture Research**, v. 50, p. 80–92, 2019. DOI: 10.1111/are.13870.

VOLMAN, J.J., RAMAKERS, J.D., PLAT, J. Dietary modulation of immune function by beta-glucans. **Physiology & Behavior**, v. 94, p. 276–284, 2008. DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.11.045.

WANG C, YUE X, LU X, LIU B. The role of catalase in the immune response to oxidative stress and pathogen challenge in the clam *Meretrix meretrix*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 34, n. 1, p. 91–99, 2013. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.10.013.

WANG, L., C., LLORENTE, P., HARTMANN, A. M., YANG, P. CHEN, AND B., SCHNABL. Methods to determine intestinal permeability and bacterial translocation during liver disease. **Journal of Immunological Methods**, v. 421, p. 44–53, 2015.

WANG, L., WU, D. I., FAN, Z. E., LI, H., LI, J., ZHANG, Y., XU, Q., WANG, G., & ZHU, Z. Effect of *Yucca schidigera* extract on the growth performance, intestinal antioxidant status, immune response, and tight junctions of mirror carp (*Cyprinus carpio*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 103, p. 211–219, 2020. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.05.039.

WELKER, T. L., C. LIM, M. AKSOY, AND P.H.KLESIUS. Use of diet crossover to determine the effects of β -glucan supplementation on immunity and growth of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 43, p. 335–348, 2012.

WHEELOCK, M.J.; JOHNSON, K.R. Cadherins as modulators of cellular phenotype. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 19, p. 207–235, 2003.

WHITTINGTON R, LIM C, KLESIUS PH. Effect of dietary bglucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 248, p. 217–225, 2005.

WOTING, A.; BLAUT, M. Small intestinal permeability and gut-transit time determined with low and high molecular weight fluorescein isothiocyanate-dextran in C3H mice. **Nutrients**, v. 10, p. 685, 2018. DOI: 10.3390/nu10060685.

XAVIER, W. DOS S.; LECLERCQ, E.; CARVALHO, P. L. F.; VICENTE, I. T. S.; GUIMARÃES, M. G.; RODRIGUES, E. J. D.; MILANEZI, R. C.; BARBÉ, F.; SARTORI, M. M. P.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M. The putative effect of a SOD-rich melon pulp concentrate on growth performance and antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under heat/dissolved oxygen-induced stress. **Aquaculture**, v. 529, p. 735669, 2020. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735669.

YAMAMOTO F.Y., YIN F., ROSSI JR W., HUME M., GATLIN III D.M. β -1,3 glucan derived from *Euglena gracilis* and Algamune™ enhances innate immune responses of red drum (*Sciaenops ocellatus* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 77, p. 273–279, 2018.

YAN, Y., V., KOLACHALA, G., DALMASSO, H., NGUYEN, H., LAROUI, S. V., SITARAMAN, AND D., MERLIN. Temporal and spatial analysis of clinical and molecular parameters in dextran sodium sulfate induced colitis. **PLoS ONE**, v. 4, e6073, 2009.

YANONG, R. P. E.; FRANCIS-FLOYD, R. Streptococcal infections of fish. Report from University of Florida. Series from the Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2002.

YILDIRIM, Ö.; TÜRKER, A.; ŞENEL, B. Effects of natural zeolite (*Clinoptilolite*) levels in fish diet on water quality, growth performance and nutrient utilization of Tilapia (*Tilapia zillii*) fry. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 18, n. 9, p. 1567–1571, 2009.

YILMAZ, E. Effect of dietary carob (*Ceratonia siliqua*) syrup on blood parameters, gene expression responses and ammonia resistance in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Research**, v. 51, p. 1903–1912, 2020. DOI: 10.1111/are.14540

YILMAZ, E. Effects of dietary anthocyanin on innate immune parameters, gene expression responses, and ammonia resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 93, p. 694–701, 2019. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.08.033

YOUSEFI, M., VATNIKOV, Y.A., KULIKOV, E.V., PLUSHIKOV, V.G., DRUKOVSKY, S.G., HOSEINIFAR, S.H., VAN DOAN, H. The protective effects of dietary garlic on common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to ambient ammonia toxicity. **Aquaculture**, v. 526, p. 735400, 2020. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735400

YUAN, X.-Y.; LIU, W.-B.; LIANG, C.; SUN, C.-X.; XUE, Y.-F.; WAN, Z.-D.; JIANG, G.-Z. Effects of partial replacement of fish meal by yeast hydrolysate on complement system and

stress resistance in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 67, p. 312–321, 2017.

ZAMRI-SAAD, M., AMAL, M.N., SITI-ZAHRAH, A. Pathological changes in red tilapias (*Oreochromis spp.*) naturally infected by *Streptococcus agalactiae*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 143, n. 2–3, p. 227–229, 2010. DOI: 10.1016/j.jcpa.2010.01.020.

ZHANG, J., WANG, P., TAN, C., ZHAO, Y., ZHU, Y., BAI, J., XIAO, X., ZHANG, L., TENG, D., TIAN, J., LIU, L., ZHANG, H. Effects of *L.plantarum* dy-1 fermentation time on the characteristic structure and antioxidant activity of barley β -glucan in vitro. **Current Research in Food Science**, v. 5, p. 125-130, 2022. DOI: 10.1016/j.crfs.2021.12.005.

ZHANG, L., ZHAO, J., LAN, H., ZENG, Z., SONG, J. Advances in the effect of plant polyphenols on the intestinal permeability. **Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, p. 107–110, 2019.

ZHANG, Q.; YU, H.; TONG, T.; TONG, W.; DONG, L.; XU, M.; WANG, Z. Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide enhance the growth, non-specific immunity of juvenile ovate pompano, *Trachinotus ovatus* and its disease resistance against *Vibrio vulnificus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 38, p. 7–14. 2014.

ZHOU, Q. C.; BUENTELLO, J. A.; GATLIN III, D. M. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). **Aquaculture**, v. 309, p.253–257.2010.

ZHU, F.; DU, B.; BIAN, Z.; XU, B. Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristics, physicochemical and biological activities. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 41, p. 165–173, 2015.

ZHU, J., GAN, X., AO, Q., SHEN, X., TAN, Y., CHEN, M., LUO, Y., WANG, H., JIANG, H., LI, C. Basal polarization of the immune responses to *Streptococcus agalactiae* susceptible

and resistant tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 75, p. 336–345, 2018.