

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 26/02/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**$\beta$ -Glucano na piscicultura: efeitos na  
incubação dos ovos, sistema imune inato e  
microbiota intestinal**

**Raphael Barbeta de Jesus**

**Jaboticabal, São Paulo  
2019**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**$\beta$ -Glucano na piscicultura: efeitos na  
incubação dos ovos, sistema imune inato e  
microbiota intestinal**

**Raphael Barbeta de Jesus**

**Orientadora: Dra. Fabiana Pilarski**

**Coorientador: Dr. Geert Frits Wiegertjes**

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

**Jaboticabal, São Paulo  
2019**

J58b Jesus, Raphael Barbetta de  
β-Glucano na piscicultura : efeitos na incubação dos ovos,  
sistema imune inato e microbiota intestinal / Raphael Barbetta de  
Jesus. -- Jaboticabal, 2019  
vi, 80 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de  
Aqüicultura, 2019  
Orientadora: Fabiana Pilarski  
Coorientador: Geert Frits Wiegertjes  
Banca examinadora: Fábio Sabbadin Zanuzzo, Geovana Dotta  
Tamashiro, Leonardo Susumu Takahashi, Marianna Vaz Rodrigues  
Bibliografia

1. Imunoestimulantes. 2. Microbiota intestinal. 3. Ovos. 4. Pacu.  
5. Prebióticos. 6. Tilápia do Nilo. 7. β-glucano. I. Título. II.  
Jaboticabal-Centro de Aqüicultura.

CDU 639.3.034



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Unidade Complementar - Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: -Glucano na piscicultura: efeitos na incubação dos ovos, sistema imune inato e microbiota intestinal

AUTOR: RAPHAEL BARBETTA DE JESUS

ORIENTADORA: FABIANA PILARSKI

COORIENTADOR: GEERT WIEGERTJES

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

Profa. Dra. FABIANA PILARSKI  
Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos / Centro de Aquicultura - CAUNESP

Profa. Dra. MARIANNA VAZ RODRIGUES  
Departamento de Microbiologia e Imunologia / Instituto de Biociências de Botucatu

  
Prof. Dr. FÁBIO SABBADIN ZANUZZO  
Department of Ocean Sciences and Biology / University of Newfoundland  
Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI  
Curso de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena  
Pós-Doutoranda GEOVANA DOTTA TAMASHIRO  
/ Centro de Aquicultura da UNESP, CAUNESP

Jaboticabal, 22 de fevereiro de 2019

## Sumário

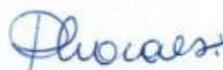
DEDICATÓRIA.....	iii
APOIO FINANCEIRO.....	v
RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUÇÃO GERAL.....	3
MANUSCRITO I.....	8
1. Introdução.....	10
2. Material e métodos .....	10
3. Resultados.....	12
4. Discussão .....	13
5. Referências .....	15
MANUSCRITO II.....	18
1. Introdução.....	20
2. Material e métodos .....	21
3. Resultados.....	26
4. Discussão .....	29
5. Referências .....	35
MANUSCRITO III.....	44
1. Introdução.....	46
2. Material e métodos .....	48
3. Resultados.....	52
4. Discussão .....	58
5. Referências .....	64
DISCUSSÃO GERAL.....	74
REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES.....	75

## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 11336/15 do trabalho de pesquisa intitulado "**Caracterização da resposta imune inata induzida por 1,3/1,6 Beta-Glucano em pacu**", sob a responsabilidade da Dr<sup>a</sup> Fabiana Pilarski, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 06 de julho de 2015.

Jaboticabal, 06 de julho de 2015.



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Castro Moraes  
Coordenadora – CEUA

## **EPÍGRAFE**

"Quem come o fruto da árvore do conhecimento é sempre expulso de algum paraíso." (William Ralph Inge)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta obra ao meu pai Valdemar de Jesus Sobrinho (*in memoriam*) e a minha mãe Rosana Celeste Barbeta de Jesus.

## AGRADECIMENTOS

Esta tese seja talvez o resultado mais visível do processo de construção em meio a uma conjuração de afetos e amizades. Dessa forma, agradeço àqueles que dela fizeram parte direta ou indiretamente ou, ainda, pelo simples fato de existirem.

À minha querida amiga e orientadora Profa. Dra. Fabiana Pilarski, agradeço o apoio, a partilha do saber e as valiosas contribuições para o trabalho. Acima de tudo, sou grato por estimular o meu interesse pelo conhecimento e pela pesquisa.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Geert F. Wiegertjes e ao amigo Dr. Jules Petit por me receberem de forma afetuosa em seu país e pelas inúmeras e valiosas trocas de conhecimento.

A todos os amigos que fizeram parte do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos (LAPOA) e que durante todos estes anos souberam fazer do ambiente de trabalho um lugar acolhedor, construtivo e agradável de se conviver.

Aos queridos Prof. Dr. Roque Takahashi, Dr. Danísio P. Munari, Dra. Maria Imaculada Fonseca e Dra. Maria Inez E. G. Martins pela inspiração profissional e pessoal que são em minha vida.

Aos meus ex-orientadores Prof. Dr. Jackson A. M. de Souza, Dra. Telma T. Berchielli e Dra. Eliana G. de M. Lemos por todas as oportunidades e lições aprendidas.

Ao meu pai Valdemar de Jesus Sobrinho (*in memoriam*) pela grandeza do seu amor. Pai, sua morte precoce é marca viva. Sua memória é exemplo de dignidade e honestidade. Agradeço a você por ter sido meu pai.

À minha mãe Rosana C. Barbeta de Jesus pela sabedoria em me educar, pela sua espiritualidade, pelo amor e carinho de mãe que soube me proteger e me ensinar os limites da vida.

A todos aqueles que, embora não nomeados, me presentearam com seus inestimáveis apoios em distintos momentos, o meu sincero e reconhecido agradecimento.

## **APOIO FINANCEIRO**

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Auxílio Financeiro (Processo nº 13/50418-1). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## **RESUMO:**

O  $\beta$ -glucano é uma molécula estudada como aditivo alimentar na piscicultura há vários anos, sendo descritos na literatura como imunoestimulante e atuando positivamente de diversas formas, como no crescimento, resistência aos patógenos, expressão dos genes do sistema imune inato, entre outros parâmetros. No presente estudo, diferentes abordagens de utilização com diferentes moléculas de  $\beta$ -glucanos foram avaliadas. No primeiro estudo, avaliamos os efeitos do banho de solução de  $\beta$ -glucano ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) durante 8 dias, após o período de exposição ao  $\beta$ -glucano foi avaliado o desempenho (massa e comprimento) das larvas de tilápia do Nilo. O segundo estudo nos possibilitou avaliar o potencial de dois  $\beta$ -glucanos de leveduras residuais provenientes da fermentação alcoólica. Os peixes foram alimentados durante 21 dias com  $1 \text{ g kg}^{-1}$  de  $\beta$ -glucano e desafiados com *Aeromonas hydrophila* inativada. No terceiro estudo avaliamos a composição intestinal bacteriana de pacus alimentados com dois diferentes  $\beta$ -glucanos de leveduras provenientes do processo de fermentação alcoólica. Para avaliar a diversidade bacteriana intestinal, os peixes foram alimentados por 21 dias com  $1 \text{ g kg}^{-1}$  de  $\beta$ -glucano, o DNA da microbiota intestinal extraído e realizado o sequenciamento (16S rDNA) utilizando a plataforma Illumina MiSeq. Os resultados do primeiro experimento demonstraram que as larvas incubadas com  $\beta$ -glucano apresentaram melhor desempenho, sendo maiores e mais pesadas que às do tratamento controle. Os resultados do nosso segundo estudo indicaram que um dos  $\beta$ -glucanos obtidos de leveduras residuais da produção de álcool avaliado foi eficaz como imunoestimulante, apresentando efeito positivo na ativação da atividade respiratória dos leucócitos. Os resultados observados no terceiro experimento demonstraram grande prevalência em todos os tratamentos dos gêneros *Cetobacterium*, *Plesiomonas* e *Epulopiscium*, os quais representam aproximadamente 60% de todos os gêneros identificados. Pesquisas utilizando diferentes moléculas de  $\beta$ -glucano são de grande importância e necessárias para averiguar a eficácia e fundamentar a utilização comercial dos mesmos.

**PALAVRAS-CHAVE:** imunoestimulantes, microbiota intestinal, ovos, pacu, prebióticos, tilápia do Nilo,  $\beta$ -glucano

## **ABSTRACT:**

$\beta$ -glucan is a molecule studied as a feed additive in fish farming for several years and is described in literature as immunostimulating, and acting positively in several ways, such as growth, resistance to pathogens, expression of innate immune system genes, among other parameters. In the present study, different approaches of use with different  $\beta$ -glucan molecules were evaluated. In the first study, we evaluated the effects of  $\beta$ -glucan bath solution ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) for 8 days, after the exposure period to  $\beta$ -glucan we evaluated the performance (mass and length) of Nile tilapia larvae. The second study allowed us to evaluate the potential of two yeast  $\beta$ -glucans from alcoholic fermentation. Fish were fed for 21 days with  $1 \text{ g kg}^{-1}$  of  $\beta$ -glucan and challenged with inactivated *Aeromonas hydrophila*. In the third study we evaluated the bacterial intestinal composition of pacu fed with two different yeast  $\beta$ -glucans from the alcoholic fermentation process. To evaluate intestinal bacterial diversity, the fish were fed during 21 days with  $1 \text{ g kg}^{-1}$  of  $\beta$ -glucan, the DNA of intestinal microbiota was extracted and sequencing (16S rDNA) was performed using the Illumina MiSeq platform. The results of the first experiment demonstrated that the larvae incubated with  $\beta$ -glucan presented better performance, being bigger and heavier than those of the control treatment. The results of our second study indicated that one of the  $\beta$ -glucans obtained from residual yeasts from the alcohol production evaluated was effective as an immunostimulant, with a positive effect on the activation of the leukocyte respiratory activity. The results observed in the third experiment showed a high prevalence in all treatments of the genera *Cetobacterium*, *Plesiomonas* and *Epulopiscium*, which represent approximately 60% of all genera identified. Research using different  $\beta$ -glucan molecules is of great importance and necessary to ascertain the efficacy and substantiate the commercial use of them.

**KEYWORDS:** immunostimulants, intestinal microbiota, eggs, pacu, prebiotics, Nile tilapia,  $\beta$ -glucan

## INTRODUÇÃO GERAL

A produção mundial de peixes tem crescido constantemente nas últimas cinco décadas, com aumento médio anual de 3,2%, ultrapassando o crescimento populacional mundial em 1,6%. O consumo global per capita de peixes aumentou de 9,0 kg em 1961 para 20,2 kg em 2015, a uma taxa média de crescimento de 1,5% ao ano. Estimativas preliminares para 2016 e 2017 apontam para um crescimento de 20,3 e 20,5 kg per capita, respectivamente. Este impressionante desenvolvimento tem sido impulsionado por uma combinação do crescimento populacional, aumento da renda, urbanização e forte expansão da produção de peixes (FAO, 2018).

Neste contexto, o Brasil apresenta vantagens para o desenvolvimento da piscicultura. Com cerca de 5,5 milhões de hectares em reservatórios naturais e artificiais de água doce, clima favorável, terras disponíveis e mão de obra relativamente barata, bem como pacotes tecnológicos já finalizados algumas espécies potencialmente produtivas. A produção brasileira de pescado continental atingiu, em 2017, 691.700 mil toneladas, com um incremento de aproximadamente 8% em relação a 2016, demonstrando um crescimento consistente desse setor no Brasil (Baptista et al., 2018).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é o peixe mais produzido no Brasil, e sua criação fez com que o país aumentasse sua produção de pouco mais de 12 mil toneladas em 1995 para 219 mil toneladas em 2015 (FAO, 2016). Em termos de produção regional, a região Sul é responsável por 42% da produção, seguida pelas regiões Sudeste (26%), Nordeste (24%) e Centro-Oeste (8%). O crescimento observado nas últimas décadas na tilapicultura alavancou o país ao posto de quarto maior produtor mundial de tilápia, atrás somente da China, Egito e Indonésia (Schulter e Vieira-Filho, 2017).

A tilápia é uma das espécies mais indicadas para a criação intensiva por ser onívora, de rápido crescimento, aceitar vários tipos de alimento, dócil em várias fases da criação e por apresentar rusticidade, com fácil domínio da sua reprodução e bom rendimento de carcaça, além de adaptabilidade em diversas condições de criação. A espécie apresenta ainda requisitos exigidos pelo mercado consumidor, tais como, carne branca de textura firme, sabor delicado, de

fácil filetagem, ausência de espinhas em Y, características estas, que a colocam entre as principais espécies comerciais do mundo (Jory et al., 2000).

Dentre os peixes nativos produzidos no Brasil, o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é um dos que mais se destaca, ocupando a segunda posição no ranking brasileiro. Nativo das bacias dos rios Paraná, Uruguai e Paraguai, ressaltam-se entre as espécies por apresentar características zootécnicas desejáveis, como carne saborosa e de alto valor comercial, hábito alimentar onívoro e em sistema produtivo aceita bem dietas artificiais, possui rápido crescimento e rendimento no processamento de 46,73% de filé sem pele; 16,57% de cabeça e 88,98% de rendimento de carcaça (Vaz et al., 2000; Jomori et al., 2003; Faria et al., 2003; Bittencourt et al., 2010; Silva et al., 2012; Valladão et al., 2018). Frente ao exposto, a espécie é amplamente produzida em todas as regiões do Brasil.

Segundo dados do último Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, a produção brasileira de pacu e patinga no Brasil em 2016 foi de 13.065 toneladas (IBGE, 2016). Todavia, a intensificação da criação tem levado ao aparecimento de diversos organismos patogênicos, causando grandes prejuízos econômicos, uma vez que podem resultar em altas taxas de mortalidade e lesões que tornam a comercialização do peixe inviável, além do impacto negativo na conversão alimentar que ocasiona redução do crescimento e desempenho dos peixes (Luque, 2004; Takemoto et al., 2004; Pavanelli et al., 2008; Tavares-Dias e Martins, 2017).

No Brasil, a aquicultura, apesar do constante crescimento, vem enfrentando entraves na produção e comercialização do pescado por problemas relacionados às enfermidades, as quais provocam danos, muitas vezes irreversíveis, aos tecidos dos peixes e uma elevada taxa de mortalidade, com consequentes prejuízos econômicos (Sebastião et al., 2015).

Neste contexto, é necessário estabelecer formas adequadas para controlar e prevenir os surtos de doenças na produção. O conceito de alimento funcional é um paradigma emergente na aquicultura, o qual objetiva a formulação de dietas equilibradas, complementadas com aditivos que melhorem a saúde e resistência à doenças dos peixes (Gatlin e Li, 2004). Dentre os aditivos mais promissores que vêm sendo utilizados nas dietas de peixes, encontram-se os imunostimulantes, substâncias químicas, sintéticas ou biológicas, capazes de aumentar a resistência

do animal às doenças infecciosas, atuando no sistema imune inato, através do aumento da atividade fagocítica e bactericida das células de defesa. O uso de imunostimulantes é um meio efetivo de aumentar a imunocompetência e a resistência às infecções causadas por vírus, fungos, bactérias e parasitos (Mulero et al., 1998; Sakai, 1999; Bricknell e Dalmo, 2005).

Entre os imunostimulantes que vêm apresentando efeitos benéficos em peixes, encontra-se o  $\beta$ -glucano, formado por uma cadeia linear de poliglicoses, derivado de leveduras, também podendo ser encontrado em alguns cereais, principalmente aveia e cevada (Robertsen, 1999; Meena et al., 2013). Os  $\beta$ -glucanos podem ser diferenciados pela forma como as moléculas de glicose estão ligadas entre si. Na maior parte dos polissacarídeos, as moléculas de glicose estão unidas por ligações  $\alpha$ -1,4, conferindo-lhes uma estrutura linear, já nos  $\beta$ -glucanos estas moléculas unem-se por ligações  $\beta$ -1,3 e  $\beta$ -1,6 o que lhes confere uma estrutura helicoidal. Esta conformação estrutural é reconhecida por componentes do sistema imune e resulta na ativação deste sistema (Robertsen et al., 1990).

Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas utilizando o  $\beta$ -glucano como um potente imunostimulante. Os resultados destas demonstram que o uso do  $\beta$ -glucano atua positivamente de diversas formas, como no crescimento (Kühlwein et al., 2014; Pilarski et al., 2017), sobrevivência e resistência à patógenos (Das et al., 2009; Sang e Fotedar, 2010; Pilarski et al., 2017), na produção de anticorpos (Kamilya et al. 2006), na alteração da microbiota intestinal (Petit e Wiegertjes, 2016; Miest et al., 2016; Jung-Schroers et al., 2016), na expressão dos genes relacionados ao sistema imune inato (Lokesh et al., 2012; Pietretti et al., 2013; Miest et al., 2016; Salah et al., 2017) e na melhora da cicatrização (Przybylska-Diaz et al., 2013; Schmidt et al., 2015) em várias espécies de peixes.

O  $\beta$ -glucano tem sua atuação principal na imunidade inata, por meio da estimulação da atividade fagocitária, que ocorre pela ligação do imunostimulante com receptores presentes em macrófagos e outras células de defesa (Engstad al., 1992; Gantner et al., 2003; Herre et al., 2004). Estudos apontam vários tipos de receptores para o  $\beta$ -glucano presentes em macrófagos (receptores scavengers, receptores complemento CR3, lactosilceramidas, receptores dectin-1, receptores Toll-like), porém, os mecanismos exatos de ação ainda não estão completamente elucidados (Meena et al., 2013). Detalhes de como os imunostimulantes, como o

$\beta$ -glucano, podem ativar os receptores de macrófagos em pacus são desconhecidos, devido à falta de pesquisas sobre as interações ligante-receptor nesta espécie.

O produto comercial Macrogard<sup>®</sup> é fonte de 1,3/1,6  $\beta$ -glucano altamente purificado, exposto e preservado, produzido a partir de uma cepa especialmente selecionada da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, sendo considerado o  $\beta$ -glucano mais estudado no mundo. Inúmeros trabalhos científicos comprovam sua capacidade de promover resistência e saúde aos animais. A célula intacta da levedura tem pouca ou nenhuma capacidade de ativar o sistema de defesa, uma vez que os  $\beta$ -glucanos biologicamente ativos estão contidos no interior da parede celular, cobertos por componentes (manoproteínas), que não são removidos pelo processo natural de digestão do trato gastrointestinal dos animais. Portanto, para criar um produto biologicamente ativo, esses componentes de superfície têm de ser removidos em um processo tecnológico exclusivo e complexo em que, através de diversas etapas de extração consegue-se liberar e expor a estrutura preservada dos 1,3/1,6  $\beta$ -glucanos em sua forma ativa (Biorigin, 2018).

Porém, o tempo do processo e custo de produção do Macrogard<sup>®</sup> ainda é um fator limitante à ampla disseminação e aproveitamento dos benefícios do uso deste imunostimulante pela maioria das pisciculturas. Criar fontes alternativas mais acessíveis para este tipo de tecnologia é desejável para o desenvolvimento de uma piscicultura nacional mais competitiva e saudável.

Uma alternativa para a produção de 1,3/1,6  $\beta$ -glucanos com custo reduzido seria o uso de leveduras residuais responsáveis pela fermentação na produção de álcool nas usinas. A levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) é usada como fermento para a obtenção de álcool a partir da cana-de-açúcar e pode ser considerada um resíduo da produção de álcool. De cada litro produzido, sobram cerca de 30 gramas de levedura seca (Costa, 2004). A produção brasileira anual de álcool na safra 2016/2017, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2017) foi de aproximadamente de 27,8 bilhões de litros, sendo o resíduo de biomassa de leveduras está perto de 834 mil toneladas.

Neste contexto, a empresa nacional “Biorigin” está desenvolvendo um produto, ainda não comercial e não testado, baseado na produção de 1,3/1,6  $\beta$ -glucano extraído de leveduras residuais provenientes da produção de álcool. A utilização de leveduras residuais, além de possibilitar a redução do custo de

produção e, como consequência um produto final mais barato, está alinhada às novas demandas do mercado para o desenvolvimento de produtos ecologicamente corretos, uma vez que utiliza material residual. Pesquisas utilizando este novo produto serão de grande importância e necessárias para averiguar sua eficácia como imunostimulante e fundamentar a utilização comercial do mesmo.

## DISCUSSÃO GERAL

O estudo inovador da utilização do 1,3/1,6  $\beta$ -glucano na incubação de ovos e embriões de tilápia-do-Nilo apresentados no primeiro manuscrito nos demonstrou resultados inesperados e promissores em relação ao desempenho produtivo das larvas, pois observamos que o imunostimulante pode chegar ao intestino ainda em estágios iniciais de vida, apresentando um bom perfil modulador da microbiota, devido a estimulação de alguns genes importantes no desenvolvimento do peixe. Esta nova abordagem do uso do  $\beta$ -glucano abre uma discussão e espaço para diversas pesquisas sobre a utilização deste produto na incubação de ovos e embriões em soluções com  $\beta$ -glucano e seus efeitos em outros diversos parâmetros ainda não abordados pela ciência, tanto na tilápia do Nilo quanto em outras espécies de peixes.

O segundo manuscrito nos possibilitou avaliar o potencial do  $\beta$ -glucano residual da indústria de produção de álcool como um potencial ativador do sistema imune inato do pacu. Este glucano apresentou efeito positivo na ativação da atividade respiratória dos leucócitos. Com isto, este glucano torna-se economicamente interessante para a aquicultura por ser mais barato e com caráter sustentável, pois é proveniente de um material residual, ampliando a utilização deste produto pelos produtores e indústrias de nutrição animal, como consequência, colaborando para uma piscicultura mais saudável e competitiva.

Os conhecimentos gerados a partir do estudo da microbiota intestinal de pacu descritos no terceiro manuscrito são inéditos, por se tratar do primeiro trabalho utilizando a tecnologia de sequenciamento massivo abordando a diversidade bacteriana presente no intestino do pacu, trazendo informações primordiais para o entendimento da composição deste microbioma. Melhorar a compreensão das relações ecológicas dos microrganismos intestinais e a possibilidade da manipulação através da utilização de glucanos, antimicrobianos, extratos e óleos de alguns vegetais, bacteriocinas entre outros compostos que poderão ser utilizados com maior eficiência e ação dirigida à determinadas espécies. Mais especificamente, este trabalho possibilitou a compreensão da ação de diferentes produtos de 1,3/1,6  $\beta$ -glucano no intestino de peixes alimentados com estas moléculas.

## REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES

Baptista, C., Dellova, D., Donati, G., Cezário, G., Real, J.V., Lino, J., Albuquerque, L., Santos, M., Oliveira, M., Vieira, R., 2018. Anuário peixe BR da piscicultura. Assoc. Bras. da Piscic. 71.

BIORIGIN. Em: <http://www.biorigin.net/biorigin/index.php/br/>. Acesso em: 25/10/2018.

Bittencourt, F., Feiden, A., Signor, A.A., Boscolo, W.R., Lorenz, E.K., Maluf, M.L.F., 2010. Densidade de estocagem e parâmetros eritrocitários de pacus criados em tanques-rede. Revista Brasileira de Zootecnia 39, 2323–2329. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001100002>

Bricknell, I., Dalmo, R., 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. Fish & Shellfish Immunology 19, 457–472. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.008>

CONAB. 2017. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, v. 3 - Safra 2016/17, n. 4 - Quarto levantamento, Brasília, p. 1–77.

Costa, L.F., 2004. Leveduras na nutrição animal. Revista Eletrônica Nutritime 1, 01–06.

Das, B.K., Debnath, C., Patnaik, P., Swain, D.K., Kumar, K., Misrhra, B.K., 2009. Effect of  $\beta$ -glucan on immunity and survival of early stage of *Anabas testudineus* (Bloch). Fish & Shellfish Immunology 27, 678–683. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.08.002>

Engstad, R.E., Robertsen, B., Frivold, E., 1992. Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. Fish & Shellfish Immunology 2, 287–297. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(06\)80033-1](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(06)80033-1)

FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Faria, R.H.S. de, Souza, M.L.R. de, Wagner, P.M., Povh, J.A., Ribeiro, R.P., 2003. Rendimento do processamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757) e do pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). Acta Scientiarum. Animal Sciences 25. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v25i1.2068>

Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries and Aquaculture Department, 2014. The State of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Gantner, B.N., Simmons, R.M., Canavera, S.J., Akira, S., Underhill, D.M., 2003. Collaborative Induction of Inflammatory Responses by Dectin-1 and Toll-like Receptor 2. The Journal of Experimental Medicine 197, 1107–1117. <https://doi.org/10.1084/jem.20021787>

Gatlin, D.M III, Li P., 2004. Dietary supplementation of prebotics for health management of hybrid striped bass *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. Aqua Feeds: Formulation & Beyond 1, 19–21.

Herre, J., Gordon, S., Brown, G.D., 2004. Dectin-1 and its role in the recognition of beta-glucans by macrophages. Molecular Immunology 40, 869–876.

IBGE, IBGE Indicadores., 2016. Estatística da produção pecuária. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Jomori, R.K., Carneiro, D.J., Malheiros, E.B., Portella, M.C., 2003. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. Aquaculture 221, 277–287. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00069-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00069-3)

Jory, D.E., Alceste, C., Cabrera, T.R., 2000. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norte América. *Panorama Acuicola* 5, 50–53.

Jung-Schroers, V., Adamek, M., Jung, A., Harris, S., Dóza, ö.-S., Baumer, A., Steinhagen, D., 2016. Feeding of  $\beta$ -1,3/1,6-glucan increases the diversity of the intestinal microflora of carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition* 22, 1026–1039. <https://doi.org/10.1111/anu.12320>

Kamilya, D., Maiti, T.K., Joardar, S.N., Mal, B.C., 2006. Adjuvant effect of mushroom glucan and bovine lactoferrin upon *Aeromonas hydrophila* vaccination in catla, *Catla catla* (Hamilton). *Journal of Fish Diseases* 29, 331–337. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2006.00722.x>

Kühlwein, H., Merrifield, D.L., Rawling, M.D., Foey, A.D., Davies, S.J., 2014. Effects of dietary  $\beta$ -(1,3)(1,6)-D-glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato-immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98, 279–289. <https://doi.org/10.1111/jpn.12078>

Lokesh, J., Fernandes, J.M.O., Korsnes, K., Bergh, Ø., Brinchmann, M.F., Kiron, V., 2012. Transcriptional regulation of cytokines in the intestine of Atlantic cod fed yeast derived mannan oligosaccharide or  $\beta$ -Glucan and challenged with *Vibrio anguillarum*. *Fish & Shellfish Immunology* 33, 626–631. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.06.017>

Luque, J.L., 2004. Biología, epidemiología e controle de parasitos de peixes. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 13 (Supl 1), 161–165.

Meena, D.K., Das, P., Kumar, S., Mandal, S.C., Prusty, A.K., Singh, S.K., Akhtar, M.S., Behera, B.K., Kumar, K., Pal, A.K., Mukherjee, S.C., 2013. Beta-glucan: an ideal immunostimulant in aquaculture (a review). *Fish Physiology and Biochemistry* 39, 431–457. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9710-5>

Miest, J.J., Arndt, C., Adamek, M., Steinhagen, D., Reusch, T.B.H., 2016. Dietary

$\beta$ -glucan (MacroGard<sup>®</sup>) enhances survival of first feeding turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae by altering immunity, metabolism and microbiota. *Fish & Shellfish Immunology* 48, 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.11.013>

Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), 2011. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura.

Mulero, V., Esteban, M.A., Muñoz, J., Meseguer, J., 1998. Dietary intake of levamisole enhances the immune response and disease resistance of the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 8, 49–62. <https://doi.org/10.1006/fsim.1997.0119>

Pavanelli, G.C., Eiras, J.D.C. and Takemoto, R.M., 2008. Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. In *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento* 305–305.

Petit, J., Wiegertjes, G.F., 2016. Long-lived effects of administering  $\beta$ -glucans: Indications for trained immunity in fish. *Developmental & Comparative Immunology* 64, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.03.003>

Pietretti, D., Vera-Jimenez, N.I., Hoole, D., Wiegertjes, G.F., 2013. Oxidative burst and nitric oxide responses in carp macrophages induced by zymosan, MacroGard<sup>®</sup> and selective dectin-1 agonists suggest recognition by multiple pattern recognition receptors. *Fish & Shellfish Immunology* 35, 847–857. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.06.022>

Pilarski, F., Ferreira de Oliveira, C.A., Darpossolo de Souza, F.P.B., Zanuzzo, F.S., 2017. Different  $\beta$ -glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. *Fish & Shellfish Immunology* 70, 25–29. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.059>

Przybylska-Diaz, D.A., Schmidt, J.G., Vera-Jiménez, N.I., Steinhagen, D., Nielsen, M.E., 2013.  $\beta$ -glucan enriched bath directly stimulates the wound healing process in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Shellfish Immunology* 35, 998–1006.

<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.05.014>

Robertsen, B., 1999. Modulation of the non-specific defence of fish by structurally conserved microbial polymers. *Fish & Shellfish Immunology* 9, 269–290. <https://doi.org/10.1006/fsim.1998.0186>

Robertsen, B., Rorstad, G., Engstad, R., Raa, J., 1990. Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. *Journal of Fish Diseases* 13, 391–400. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1990.tb00798.x>

Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172, 63–92. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00436-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00436-0)

Salah, A.S., El Nahas, A.F., Mahmoud, S., 2017. Modulatory effect of different doses of  $\beta$ -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* 70, 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.09.008>

Sang, H.M., Fotedar, R., 2010. Effects of dietary  $\beta$  – 1,3 – glucan on the growth, survival, physiological and immune response of marron, *Cherax tenuimanus* (smith, 1912). *Fish & Shellfish Immunology* 28, 957–960. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.01.020>

Schmidt, J.G., Andersen, E.W., Ersbøll, B.K., Nielsen, M.E., 2016. Muscle wound healing in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology* 48, 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.12.010>

Scholz, U., Garcia Diaz, G., Ricque, D., Cruz Suarez, L., Vargas Albores, F., Latchford, J., 1999. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products. *Aquaculture* 176, 271–283. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00030-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00030-7)

Schulter, E.P.; Vieira Filho, J.E.R., 2017. Evolução da piscicultura no Brasil: Diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia, Texto para Discussão, No. 2328, Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), Brasília

Sebastião, F.A., Furlan, L.R., Hashimoto, D.T., Pilarski, F., 2015. Identification of Bacterial Fish Pathogens in Brazil by Direct Colony PCR and 16S rRNA Gene Sequencing. *Advances in Microbiology* 05, 409–424. <https://doi.org/10.4236/aim.2015.56042>

Silva, J.R., Rabenschlag, D.R., Feiden, A., Boscolo, W.R., Signor, A.A., Bueno, G.W., 2012. Produção de Pacu em tanques-rede no reservatório de itaipu, Brasil: retorno econômico. *Archivos de Zootecnia* 61, 245–254. <https://doi.org/10.4321/S0004-05922012000200009>

Takemoto, R.M., Lizama, M.A., Guidelli, G.M., e Pavanelli, G.C., 2004. Parasitos de peixes de águas continentais. In *Sanidade de organismos aquáticos* 1, 179–197.

Tavares-Dias, M., Martins, M.L., 2017. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. *Journal of Parasitic Diseases* 41, 913–918. <https://doi.org/10.1007/s12639-017-0938-y>

Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F., 2018. South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 10, 351–369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>

Vaz, M.M., Torquato, V.C., Barbosa, N.D.C., 2000. Guia ilustrado de peixes da bacia do Rio Grande. Belo Horizonte: Cemig/Cetec.