

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

LEVEDURA (*Saccharomyces cerevisiae*) COMO PROBIÓTICO  
PARA AS FASES INICIAIS DO CULTIVO DA TILÁPIA DO  
NILO (*Oreochromis niloticus*)

Autor: Fábio Meurer  
Orientador: Prof. Dr. Carmino Hayashi

“Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal”.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Março de 2005

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

LEVEDURA (*Saccharomyces cerevisiae*) COMO PROBIÓTICO  
PARA AS FASES INICIAIS DO CULTIVO DA TILÁPIA DO  
NILO (*Oreochromis niloticus*)

Autor: Fábio Meurer  
Orientador: Prof. Dr. Carmino Hayashi

“Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal”.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Março de 2005

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

LEVEDURA (*Saccharomyces cerevisiae*) COMO PROBIÓTICO  
PARA AS FASES INICIAIS DO CULTIVO DA TILÁPIA DO  
NILO (*Oreochromis niloticus*)

Autor: Fábio Meurer  
Orientador: Prof. Dr. Carmino Hayashi

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia – Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em \_\_\_ de março de 2005.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Carmino Hayashi  
(Orientador)

A Deus,  
que iluminou o meu caminho;

Aos meus pais Balduino e Ilse Valéria,  
que me ensinaram a direção e sempre me apoiaram;

À minha esposa Leda Maria,  
a usina de força que manteve minha energia;

À minha filhinha Maria Luísa,  
que me motivou sempre, durante as épocas mais duras;

Ao meu Orientador Prof. Dr. Carmino Hayashi,  
que foi companheiro durante toda a jornada;

Aos meus verdadeiros amigos,  
que me auxiliaram em todos os momentos;

DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu força e saúde para agüentar o tranco.

Ao Prof. Dr. Carmino Hayashi pela confiança, oportunidade, orientações, ensinamentos e pela sua postura frente a tudo e a todos, um exemplo a ser seguido.

À Universidade Estadual de Maringá pela estrutura educacional disponibilizada.

Aos professores do Departamento de Zootecnia e do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá, pelo esforço e auxílio constante.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela estrutura disponibilizada.

Aos meus pais e sogros pelo auxílio no cuidado de minha filha sempre quando necessário e pelo estímulo constante.

Aos meus amigos Patilene, Mi, Mateus, Robie, Doblinski, Fly, Luciano, os quais foram realmente amigos, definição que dispensa adjetivos.

Aos meus orientados, Tubarão, Seco, Pranchita, Daniele e Carmem; aos estagiários Milton, Liane e Marlise pelo auxílio durante a execução dos experimentos.

Aos colegas de trabalho da PUCPR, da UNOESC e todas as pessoas que direta ou indiretamente auxiliaram no desenvolvimento dos trabalhos.

## BIOGRAFIA

FÁBIO MEURER, filho de Balduino Meurer e Ilse Valéria Mallmann Meurer, nasceu na cidade paranaense de Umuarama, no dia 15 de fevereiro de 1973.

Em dezembro de 1996, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em fevereiro de 2000, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de nutrição de peixes.

No dia 28 de fevereiro de 2002 defendeu sua dissertação de Mestrado na área de nutrição e manejo de peixes.

Em março de 2002, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de nutrição de peixes.

Em abril de 2003, foi contratado como professor Assistente pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná, no *campus* Toledo, ministrando aulas de Bioquímica para o Curso de Medicina Veterinária, Agronomia, Biologia e Enfermagem, bem como de Zootecnia Geral e Monogástricos para a Medicina Veterinária.

No dia 21 de março de 2005, submeteu-se à banca para a defesa da tese de Doutorado.

## ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE QUADROS.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
I – INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Introdução Geral.....	1
1.2. Tilápia do Nilo.....	4
1.3. Probióticos em Peixes.....	9
1.4. Citação Bibliográfica.....	14
II – OBJETIVOS GERAIS.....	20
III – <i>Saccharomyces cerevisiae</i> COMO PROBIÓTICO PARA A TILÁPIA DO NILO DURANTE O PERÍODO DE REVERSÃO SEXUAL.....	21
Resumo.....	21
Abstract.....	22
Introdução.....	23
Material e Métodos.....	25
Resultados e Discussão.....	28
Conclusão.....	34
Literatura Citada.....	35

IV – <i>Saccharomyces cerevisiae</i> COMO PROBIÓTICO PARA A TILÁPIA DO NILO DURANTE O PERÍODO DE REVERSÃO SEXUAL, SUBMETIDA A UM DESAFIO SANITÁRIO.....	38
Resumo.....	38
Abstract.....	39
Introdução.....	40
Material e Métodos.....	42
Resultados e Discussão.....	46
Conclusão.....	53
Literatura Citada.....	54
IV – <i>Saccharomyces cerevisiae</i> COMO PROBIÓTICO PARA A ALEVINOS TILÁPIA DO NILO SUBMETIDOS A UM DESAFIO SANITÁRIO.....	57
Resumo.....	57
Abstract.....	58
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	61
Resultados e Discussão.....	64
Conclusão.....	70
Literatura Citada.....	71
V – CONCLUSÕES GERAIS.....	74

## LISTA DE QUADROS

	Páginas
TABELA 1. Valores dos parâmetros físico-químicos da água das unidades experimentais.....	29
TABELA 2. Valores dos parâmetros dos alevinos de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) submetidos a rações com e sem probiótico.....	29
TABELA 3. Número médio das contagens de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de bactérias e coliformes totais da água dos aquários experimentais e do intestino de alevinos de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) submetidos a rações com e sem probióticos.....	48
TABELA 4. Valores dos parâmetros mensurados e calculados da tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) submetidos a rações com e sem probiótico, durante a fase de reversão sexual.....	48
TABELA 5. Número médio das contagens de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de bactérias e coliformes totais da água dos aquários experimentais e do intestino de alevinos de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) submetidos a rações com e sem probióticos.....	66
TABELA 6. Valores dos parâmetros mensurados e calculados da tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) submetidos a rações com e sem probiótico, durante a fase de reversão sexual.....	66

## RESUMO

Foram realizados três experimentos no Laboratório de Aqüicultura da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, *Campus* de Toledo, objetivando avaliar a levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) como probiótico para as fases iniciais da tilapicultura, com e sem desafio sanitário. O primeiro experimento objetivou avaliar a *S. cerevisiae* (SC) como probiótico em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual (28 dias). Foram utilizadas 200 larvas de dois dias de idade, pesando  $9 \pm 1,15$  mg, distribuídas num delineamento completamente casualizado com dois tratamentos e quatro repetições em oito aquários de 50 L. Os tratamentos constituíram-se de uma ração comercial para reversão sexual de tilápia contendo 0,1% de SC ( $10^{10}$  Unidades Formadoras de Colônia de SC por g de produto) (TP) e outra sem a inclusão do probiótico (TT). Ao final do experimento os alevinos foram contados, medidos e pesados. Dois alevinos de cada tratamento foram escolhidos aleatoriamente, retirados e tiveram seus fígados pesados para análise do índice hepato-somático (IHS). O intestino de um destes alevinos foi retirado assepticamente e o seu conteúdo foi submetido à contagem e identificação dos gêneros bacterianos presentes, outros dez alevinos foram analisados quanto a efetividade da reversão sexual (ERS). O desempenho, sobrevivência, ERS e IHS não foram influenciados pela inclusão de SC ( $p > 0,05$ ). A SC colonizou o intestino dos alevinos do TP, porém não foi encontrada no TT. Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) quanto ao número de bactérias por g de conteúdo intestinal. Os principais gêneros bacterianos isolados foram *Bacillus sp.* e *Enterococcus sp.*, não sendo observadas bactérias gram negativas. A utilização de SC como probiótico em rações para a tilápia do Nilo, durante o período de reversão sexual, não influenciou no desempenho produtivo, sobrevivência, ERS e IHS, porém proporcionou a colonização do intestino desta, e a modificação da sua microbiota. O segundo experimento foi realizado durante 29 dias e

objetivou avaliar a SC como probiótico em rações para a tilápia do Nilo durante o período de reversão sexual, submetida a um desafio sanitário. Foram utilizadas 300 larvas de dois dias de idade, pesando  $8,9 \pm 1,02$  mg e  $0,71 \pm 0,09$  cm, distribuídas num delineamento completamente casualizado com dois tratamentos e seis repetições em 12 aquários de 50 L. Cada aquário recebeu como desafio sanitário 0,5 mL de esterco de suíno *in natura* diariamente. Os tratamentos constituíram-se de uma ração comercial para reversão sexual de tilápia, uma contendo 0,1% de SC (TP) e outra sem a inclusão do probiótico (TT). As larvas foram alimentadas cinco vezes ao dia à vontade. Ao final do experimento os alevinos foram contados, medidos e pesados. Dois alevinos de cada tratamento foram escolhidos aleatoriamente para a retirada e pesagem de seus intestinos. O conteúdo intestinal foi submetido à contagem do número de bactérias e coliformes totais presentes. O desempenho e a sobrevivência não foram influenciados pela inclusão de SC ( $p > 0,05$ ). A SC colonizou o intestino dos alevinos do TP e não foi observado no TT. Não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) quanto ao número de bactérias e totais por g de conteúdo intestinal e da água dos aquários. Entretanto, o número de coliformes fecais na água e no intestino foi significativamente ( $p < 0,08$ ) influenciado pela inclusão de levedura, sendo menor no TP que no TT. A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual promoveu a colonização do intestino e diminuiu o número de coliformes totais do intestino e do ambiente aquático de um sistema de cultivo com desafio sanitário. O terceiro experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a inclusão de SC como probiótico em rações para alevinos de tilápia do Nilo submetidos a um desafio sanitário. Foram utilizadas 60 alevinos com cerca de 30 dias de idade ( $0,45 \pm 0,02$  g e  $3,10 \pm 0,14$  cm) distribuídos num delineamento semelhante ao do experimento anterior. O desafio sanitário e os tratamentos também seguiram o protocolo experimental do ensaio anterior. Dois alevinos de cada tratamento foram escolhidos aleatoriamente para a retirada e pesagem dos seus intestinos. O seu conteúdo foi submetido à contagem do número de bactérias e coliformes totais presentes. O desempenho e a sobrevivência não foram influenciados pela inclusão de SC ( $p > 0,05$ ). A SC colonizou o intestino dos alevinos apenas do TP. Não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) quanto ao número de bactérias e coliformes totais por g de conteúdo intestinal e por mL da água dos aquários. A utilização de SC como probiótico em rações de alevinos de tilápia do Nilo promoveu a colonização do intestino, entretanto, não influenciou o desempenho e a sobrevivência num sistema de cultivo com desafio sanitário.

Palavras-chave: aditivo, alevinagem, nutrição, piscicultura, reversão sexual, tilapicultura

## ABSTRACT

Three experiments were performed in the Laboratory of Aquaculture of the Pontificia Universidade Católica in the state of Paraná, *Campus* of Toledo, with the objective to evaluate the live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as probiotic for the initial phases of the Nile tilapia culture, with and without sanitary challenge. The object of the first experiment was to evaluate the *S. cerevisiae* (SC) as probiotic rations for the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during the period of sexual reversion. The treatments consisted of a commercial ration for tilapia sexual reversion content 0.1% of SC ( $10^{10}$  SC Colony Formation Unit per g of product g) (TP) and another one without the inclusion of the probiotic (TT). Throughout the experiment the fingerlings were counted, measured, and weighed. Two fingerlings were randomly chosen for each treatment. The liver was removed, weighed, and analyzed for the hepato-somatic index (IHS). On one of these fingerlings, the intestine was removed and its content was submitted to counting and identification of present bacterial sorts. Another ten fingerlings were analyzed for the effectiveness of sexual reversion (ERS). The performance, survival, ERS, and IHS were not influenced by the inclusion of SC ( $p>0.05$ ). The SC that colonized the intestine of the fingerlings of the TP and TT was not found. Significant differences ( $p>0.05$ ) relating to the number of bacteria for g of intestinal content was not observed. The main isolated bacterial sorts were *Bacillus* sp. and *Enterococcus* sp.. There was not any negative bacteria gram observed. The use of SC as probiotic rations for the Nile tilapia, during the period of sexual reversion, did not influence the productive performance, survival, ERS, and IHS in the system of culture without sanitary challenge. However, it provided for the colonization of the intestine of this, as well as the modification of its microbiota. The second experiment was carried through during 29 days with the objective to evaluate the SC as probiotic rations for the Nile tilapia during the period of sexual reversion, submitted to a sanitary

challenge. There were used 300 two day old larvae, weighing  $8.9 \pm 1.02$  mg, and  $0.71 \pm 0.09$  cm of length, distributed in a completely random design with two treatments and six repetitions in twelve aquariums of 50 L. The daily sanitary challenge was a supply of 2.0 ml of fresh swine manure. Treatments consisted of a commercial ration of sexual reversion for tilapia The first content 0.1% of *S. cerevisiae* (TP) and another one without the inclusion of the probiotic (TT). The larvae were fed five times a day to the will. Throughout the experiment the fryes were counted, measured, and weighed. Two fryes were randomly chosen for each treatment. The intestines were removed and weighed. Their content was submitted to count the number of bacteria and total present coliforms. The performance and survival were not influenced by the inclusion of SC ( $p > 0.05$ ). The SC that colonized the intestine of fryes of TP, and TT, were not found. Significant differences ( $p > 0.05$ ) were not observed in the bacteria and the total coliforms number per g of intestinal content and the aquariums' water. The use of SC as probiotic rations for the Nile tilapia during the period of sexual reversion promoted the settling of the intestine. However, it did not influence the performance and survival, in a system of culture with sanitary challenge. The third experiment was carried through with the objective to evaluate the inclusion of SC as probiotic rations for fingerlings of Nile tilapia submitted to a sanitary challenge. Sixty fingerlings of approximately 30 days of age with weigh and length of  $0.45 \pm 0.02$  g and  $3.10 \pm 0.14$  cm were used, and distributed in a completely random design with two treatments and six repetitions in twelve 50 L aquariums. The daily sanitary challenge of each aquarium was the equivalent of 2.0 ml of fresh swine manure. The treatments consisted of a ration content of 0.1% of SC (TP) and another one without the probiotic (TT). Throughout the experiment the fingerlings were counted, measured, and weighed. Two fingerlings of each treatment were randomly chosen, removed, and weighed. The intestines' content were submitted to count the number of bacteria and total present coliforms. The performance and survival were not influenced by the inclusion of SC ( $p > 0.05$ ). The SC that colonized the intestine of the fingerlings of the TP and TT were not found. Significant differences ( $p > 0.05$ ) relating to the number of bacteria and total coliforms for g of intestinal content and the water of the aquariums were not observed. The use of *Saccharomyces cerevisiae* as probiotic rations of fingerlings of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) promoted the settling of the intestine. However, it did not influence the productive performance and survival in a system of culture with sanitary challenge.

Key words: Nile tilapia, nutrition, probiotic, *Saccharomyces cerevisiae*, yeast

# I. INTRODUÇÃO

## 1.1. Introdução Geral

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies que mais desperta interesse na piscicultura, ocupando lugar de destaque dentro da piscicultura de água doce, tanto no contexto nacional quanto mundial. Características desejáveis para o cultivo, como rusticidade, facilidade de produção de alevinos, qualidade dos produtos que dela derivam e a capacidade de adaptação a variados sistemas de cultivo, são alguns dos fatores que levam ao sucesso que esta espécie apresenta na piscicultura.

O produto nobre da tilápia do Nilo é o filé, é muito apreciado e bem aceito no mercado nacional e internacional em função da sua qualidade organoléptica e nutricional. Além do filé, o peixe adulto é apreciado também na pesca esportiva em estabelecimentos denominados de “pesque-pague”. Possui ainda alguns subprodutos que são derivados da industrialização do seu filé, como a pele, a farinha bruta de resíduos, a farinha desengordurada e o óleo.

Com o aumento constante da piscicultura e, portanto, do cultivo da tilápia do Nilo, ou tilapicultura, uma série de estudos foram e estão sendo conduzidos, nos mais diversos estágios de desenvolvimento e condições experimentais, com o objetivo de

desenvolver conhecimento e estratégias de manejo para que o seu cultivo racional seja o mais economicamente viável e ambientalmente adequado.

A inclusão de aditivos em rações de monogástricos, como aves e suínos, que diminuem a ocorrência de microrganismos indesejáveis no trato digestório é uma prática bastante comum. Os antibióticos são pertencentes a uma das classes destes aditivos amplamente utilizados e combatem estes problemas de maneira eficaz. Devido a problemas relacionados com o aumento da resistência dos agentes infecciosos, bem como a possibilidade de acúmulo de resíduos na carcaça dos animais, uma ampla gama destes antibióticos foi proibido em países da Europa, mercado este, responsável por uma grande parte do consumo dos produtos cárneos, tanto de suínos como de aves.

Em contrapartida, a utilização de probióticos sempre foi uma alternativa ao uso de antibióticos. Porém, com uma eficiência nem sempre comprovada cientificamente, quando comparados aos antibióticos.

Dentro da piscicultura nacional a utilização de antibióticos em rações, com o objetivo de diminuir a carga de microrganismos patogênicos é uma prática usual com o objetivo de evitar infecções que geralmente ocorrem nas fases iniciais de cultivo, porém não há estudos sobre este tipo de procedimento. Na aquicultura mundial, os antibióticos são utilizados com frequência, principalmente na carcinocultura e nas fases iniciais da piscicultura. Entretanto, é uma prática que vem sendo discutida e existe a preocupação na busca de alternativas, como por exemplo, o uso de probióticos.

Com aumento da densidade de cultivo em função da necessidade do maior aproveitamento dos tanques escavados ou mesmo na utilização de tanques-rede, problemas relacionados ao aumento de doenças são mais frequentes, levando à necessidade do aumento da utilização de antibióticos. Em função dos problemas advindos da utilização de antibióticos, sejam eles de ordem econômica, mercadológicas

ou sanitárias, devem ser estudadas alternativas à utilização de antibióticos na aqüicultura, como as vacinas e os probióticos.

Peixes de maneira geral são monogástricos, com um sistema digestório semelhantes ao dos monogástricos terrestres mais cultivados. Portanto, o uso de probióticos na piscicultura pode agir de forma semelhante àquela observada para os outros monogástricos. Entretanto, a relação de organismos aquáticos com o ambiente de cultivo é bem mais complexa que aquela envolvendo animais terrestres. Os microrganismos presentes no ambiente aquático estão em contato direto com o exterior do peixe, brânquias e com o alimento fornecido, tendo fácil acesso ao trato digestório. Microrganismos potencialmente patogênicos são oportunistas, isto é, aproveita-se de alguma situação de estresse do animal para então causar infecções, podendo, dependendo da situação ocasionar perda no desempenho e até a morte.

Um fato interessante em relação aos probióticos para organismos aquáticos é que o seu efeito não é somente no animal, mas também no ambiente de cultivo. A utilização de probióticos em organismos aquáticos parece ter efeito positivo em alguns experimentos e atividades de cultivo, controlando o aparecimento de algumas doenças bacterianas. Algumas cepas de microrganismos foram e estão sendo testadas nos mais diversos sistemas de cultivos, espécies e fases de cultivo, dentro da aqüicultura.

A *Saccharomyces cerevisiae* é um microrganismo que pode ser utilizado como probiótico na aqüicultura. Pouco se sabe sobre o efeito deste como probiótico nos organismos aquáticos, portanto, o seu estudo se faz necessário em função da geração de conhecimento específico para a tilapicultura.

## 1.2. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Tilápia é a denominação que abrange várias espécies de peixes da tribo *Tilapiini* pertencentes à família *Cichlidae*. São peixes que, conforme Popma & Phelps (1998), originaram-se do Centro-Sul da África até o Norte da Síria. Muitas espécies destes cecídeos são cultivadas no mundo, entretanto, em função das suas características produtivas, poucas destas espécies são comercialmente cultivadas. A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), a tilápia mossâmbica (*O. mossambicus*), a tilápia azul (*O. aureus*), *O. macrochir*, *O. hornorum*, *O. galilaeus*, *Tilapia zillii* e a *T. rendalli*, podem ser consideradas como as principais espécies comercialmente cultivadas (El-Sayed, 1999).

Depois da Segunda Grande Guerra até os presentes dias, as tilápias foram exportadas da África, primeiro para a Ásia, depois para todo o mundo, para o controle biológico de plantas e insetos aquáticos e, mais recentemente, pelo desenvolvimento da aquicultura (Costa-Pierce, 2003). Entretanto, Lovshin (1997) cita que a disseminação deste peixe pelo mundo, inicialmente foi feita com o objetivo da produção de alimento para a subsistência em países em desenvolvimento. A sua distribuição foi feita através da introdução artificial em mais de 100 países tropicais e subtropicais (Coward & Bromagel, 2000).

A primeira espécie introduzida em outros países foi a *O. mossambicus* (Popma & Phelps, 1998), entretanto, esta espécie apresentava baixo desempenho produtivo (Lazard & Rognon, 1997). De acordo com Lazard (1984) citado por Lazard & Rognon (1997), no final dos anos setenta a *O. niloticus* demonstrou um alto potencial para a aquicultura,

em vários sistemas de criação. Porém, de acordo com Castagnolli (1992), a tilápia do Nilo (*O. niloticus*) já havia sido introduzida no Brasil em 1971.

A tilápia do Nilo é o segundo peixe de água doce mais cultivado em todo o mundo, ficando atrás apenas da carpa comum (Borguetti et al. 2003; Alceste & Jorry, 1998). A produção mundial anual de tilápias ultrapassa as 1.385.000 t e sua criação está em contínua expansão (Borguetti et al. 2003). Os maiores produtores mundiais encontram-se no continente asiático, a China com 706.585 t, Filipinas com 102.584 t e Tailândia com 100.478 t (FAO, 2005). Dentre as espécies de tilápia cultivadas no mundo a *O. niloticus* é a mais utilizada (Lazard & Rognon, 1997; Popma & Phelps, 1998).

Nas Américas do Norte e Central, a tilápia do Nilo é o peixe de água doce que ocupa a quarta colocação entre os mais cultivados e, na América Latina, o Brasil aponta como o maior produtor desta espécie, respondendo por cerca de 64,2% da produção (Borguetti et al., 2003). O cultivo da tilápia nas Américas está em expansão, visto o crescimento do seu mercado doméstico e a exportação para os Estados Unidos (Alceste & Jorry, 1998).

A tilápia do Nilo é cultivada desde a bacia do rio Amazonas até o Rio Grande do Sul. O interesse por este peixe no Sul e Sudoeste do país cresceu rapidamente nos últimos anos pela introdução da tecnologia da reversão sexual e pesque-pagues. A tilápia é criada em diversos sistemas cultivo, desde a cultura semi-intensiva em tanques que recebem dejetos animais, até os cultivos intensivos em *raceways* e tanques-rede (Lovshin, 1997). No Brasil, a exemplo do que ocorre a nível mundial, a tilápia ocupa o segundo posto entre as espécies de água doce mais cultivada com sua produção crescendo anualmente, passando de 12.014 t no ano de 1995 para 42.003 t em 2002 (FAO, 2005).

No Estado do Paraná a tilápia é responsável por 70,62% do total de peixes cultivados, com 16.172 t, sendo responsável por 48% da receita bruta gerada pela aquíicultura e pesca, cerca de trinta milhões de reais. A região Oeste é responsável pela maior parcela desta produção, com destaque para os Municípios de Toledo e Cascavel, onde a produção atinge respectivamente, 7.339 t e 1.618 t (SEAB, 2004).

A tilápia do Nilo destaca-se como uma espécie de peixe com bom potencial para piscicultura, por sua rusticidade, crescimento rápido e adaptação ao confinamento (Hayashi et al., 1999, Hayashi, 1995; MacIntosh & Little, 1995). Pode ser cultivado tanto em água doce, quanto estuarina ou salobra (Meurer et al 2003). Outros fatores favoráveis ao seu cultivo são o baixo custo relativo a outras espécies, principalmente em relação ao custo com a produção de alevinos e alimentação, bem como a qualidade da sua carne (Lahav & Ra'nam, 1997).

Lovshin (1997) afirma que a espécie de tilápia preferida para o cultivo é a *O. niloticus* por causa do seu rápido crescimento e sua coloração clara. A tilápia do Nilo pode ser cultivada tanto em sistemas intensivos quanto extensivos (Conte, 2002), onde a alimentação pode ser derivada apenas do plâncton do ambiente ou somente da ração artificial completa, ou do consórcio entre estes (Meurer et al., 2002).

A tilápia do Nilo é a espécie mais resistente entre as comumente cultivadas, à alta temperatura, à baixa concentração de oxigênio dissolvido e à alta concentração de amônia na água (Popma & Phelps, 1998). As tilápias têm conforto térmico entre 27 a 32 °C, sendo que em temperaturas abaixo e acima desta faixa, diminuem o apetite e também o crescimento. Entre 27 e 20 °C o consumo de alimento e o crescimento reduzem linearmente, de 20 a 14 °C o apetite fica bastante reduzido, diminuindo-se bastante a resistência às doenças e ao manuseio e as temperaturas entre 14 e 8 °C geralmente levam à morte. À medida que a temperatura eleva-se entre 32 até 38 °C

ocorre diminuição do consumo de ração e também maior susceptibilidade a doenças e manuseio, temperaturas acima de 38 °C pode causar morte (Kubitza, 2000).

A tilápia do Nilo possui hábito alimentar onívoro e aceita rações artificiais desde o período pós-larval (Meurer et al., 2002; Santiago et al., 1987). É de baixo nível trófico, tendo vantagem em relação às espécies carnívoras que utilizam grande quantidade de farinha de peixe nas rações (Fitzsimmons, 2000). Durante a fase larval, as tilápias do Nilo podem utilizar pelo menos 50% da proteína da sua dieta proveniente de fontes vegetais (Souza et al., 2000). Apresenta bons valores de digestibilidade dos alimentos comuns e alternativos, tanto de origem animal quanto vegetal (Boscolo et al., 2004; Meurer et al., 2003a; Boscolo et al., 2002).

A partir da fase de alevino, a tilápia do Nilo pode utilizar fontes protéicas de origem vegetal, como fonte única de proteína, sem apresentar problemas relacionados ao desempenho (Boscolo et al., 2001), desde que sejam tomados os devidos cuidados quanto ao balanço aminoacídico adequado ao requerimento dos peixes (El-Dahhar & El-Shazly, 1993). Também devem ser observados a presença e o tipo dos polissacarídeos não-amiláceos presentes nos alimentos de origem vegetal, que podem influir de forma negativa no desempenho do peixe (Meurer & Hayashi, 2003). A tilápia do Nilo utiliza eficientemente os carboidratos da dieta (Viola & Arieli, 1983; Anderson et al., 1984; Shiau, 1997), quando comparada a outras espécies de peixes comumente cultivados (Degani & Revach, 1991).

A cadeia produtiva da tilápia do Nilo possui vários segmentos, podendo ser dividido em alevinocultores, criadores, frigoríficos e pesque-pagues. Os alevinocultores são produtores de alevinos e juvenis. Os criadores são responsáveis pela engorda dos alevinos até o peso de abate. Os frigoríficos compram, abatem e processam os peixes; e por fim o pesque-pague que adquire os peixes com o peso de abate e os estocam em

lagos para a pesca esportiva (Sonoda, 2002). A tilápia apresenta mercado promissor tanto em pesque-pagues quanto na indústria de filetagem (Zanoni et al., 2000). Dentre os peixes cultivados no Brasil, a tilápia do Nilo pode ser destacada como uma das espécies que dispõem de uma das cadeias produtivas mais bem estruturadas.

O mercado consumidor aceita muito bem o produto principal da tilapicultura, o filé de tilápia, o qual possui excelente qualidade organoléptica e nutritiva, destacando a carne branca, a textura firme (Souza, 2002), o valor de proteína bruta entre 16,9 e 20,0% (Dietrich, 2003; Visentainer et al., 2003; Soccol, 2002; Beux et al., 2001; Kubitza, 2000), baixo conteúdo calórico de 172 kcal/100g de filé e teor de gordura de 0,9% (Borghetti et al., 2003). E a ausência de espinhos em “Y” facilitam a sua filetagem e proporcionam filés sem espinhos (Hildsorf, 1995).

Outros subprodutos que podem ser aproveitados da tilápia do Nilo são o couro, farinha de resíduos bruta, farinha de resíduos desengordurada e o óleo de tilápia. A produção de resíduos de frigoríficos na filetagem da tilápia representa entre 62,5 e 66,5 % da matéria prima que é desperdiçada, sendo fundamental o processamento destes resíduos para redução do impacto ambiental. Além disto, a transformação destes resíduos em farinha pode ser mais uma opção de renda para as indústrias, aumentando sua lucratividade (Boscolo et al., 2001).

Os alevinocultores são responsáveis por uma parte extremamente importante do cultivo, pois é deles a responsabilidade da produção de alevinos ou juvenis, em quantidade e qualidade para as fases subsequentes do cultivo (Hayashi et al., 2002). O início da alevinagem é denominada de fase de reversão sexual em função do processo a que os peixes são submetidos neste período (Bombardelli et. al., 2004). A reversão sexual é de fundamental importância dentro do cultivo racional da tilápia do Nilo, em função da necessidade de obtenção de indivíduos machos para a engorda, evitando

problemas provenientes dos gastos energéticos com a reprodução e a desova, além do excesso populacional nos viveiros e a heterogeneidade causada pelo maior crescimento do macho em comparação à fêmea (Meurer et al., 2005; Meurer et al., 2003b; Toyama et al., 2000).

O início da engorda em piscigranjas pode ser feito com alevinos pesando geralmente entre 0,3 e 3g, ou na fase juvenil de 30 a 50g, prática feita principalmente quando se utiliza o cultivo em tanques-rede. A tilápia do Nilo pode atingir mais de 3kg, entretanto, é vendida com 400 a 700g, variando em função do mercado consumidor. O tempo necessário para que o peixe atinja o tamanho comercial pode variar de cerca de quatro meses a um ano, em função de uma série de fatores, como o tipo de alimentação, temperatura da água, qualidade da água de cultivo, densidade de estocagem, entre outros.

### 1.3. Probióticos em peixes

O aumento de problemas advindos de doenças leva a perdas significativas na produção aquícola, afetando o desenvolvimento econômico do setor em muitos países (Gram et al., 1999). Com o crescimento da piscicultura intensiva no Brasil, observa-se o aumento da ocorrência de doenças nos sistemas de produção (Costa, 2003). *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *Flavobacterium psychrophilum* são os agentes causadores das doenças mais comuns na aquíicultura da Finlândia, causando as maiores perdas econômicas no setor (Nikoskelainem et al., 2001). No Brasil, as bactérias do gênero *Aeromonas* são um dos principais causadores de consideráveis perdas na piscicultura (Costa, 2003).

A utilização de antibióticos para o controle destas infecções tem tido um sucesso limitado na prevenção ou cura em ambientes aquáticos. O uso indiscriminado de antibióticos para o controle de doenças ou como promotores de crescimento, aumenta a pressão da seleção sobre os microrganismos, levando naturalmente ao aumento da resistência bacteriana. Além da proliferação das bactérias resistentes após a morte das bactérias não resistentes ao antibiótico, há também a possibilidade da transferência dos genes de resistência a outras bactérias que nunca foram expostas a tal antibiótico (Verschuere, et al., 2000a).

Em função dos problemas advindos com a utilização de antibióticos em rações, a União Européia proibiu a utilização de alguns dos antibióticos comumente utilizados, como a tilosina, virginamicina, espiramicina e bacitracina de zinco (Jin et al., 2000). Estes antibióticos foram bastante utilizados como promotores de crescimento, particularmente em monogástricos, como suínos e aves (Denli et al., 2003).

Uma série de alternativas ao uso de antibióticos no controle de doenças têm sido propostas e tem tido sucesso na aquicultura, sendo os probióticos uma das possíveis alternativas (Nikoskelainen et al., 2001; Gram et al., 1999; Gildberg et al., 1997). Probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos, suplementados por meio dos alimentos, que afetam benéficamente o hospedeiro pela melhora em seu balanço intestinal (Fuller, 1989). Mattar et al. (2001) acrescentam que melhoram ou previnem uma doença. Verschuere et al. (2000a) especificam ainda, que na aquicultura pode ter um efeito nos microrganismos presentes no ambiente aquático.

Microrganismos aptos a colonizar o intestino devem se adaptar à especificidade física, química e biótica do ambiente intestinal devendo resistir à ação da bile, enzimas digestivas, ao sistema imunológico do hospedeiro, anaerobiose e variações do pH. O sucesso da colonização também envolve a competição com outras bactérias por sítios de

ligação, nutrientes e resistência a toxinas produzidas por outras bactérias (Ouwehand et al., 2002; Vaughan, et al., 2002; Makridis et al., 2000; Dunne et al., 1999).

Uma das características desejáveis a um microrganismo, para que este seja utilizado como probiótico, é ser capaz de colonizar o trato gastro-intestinal. Porém, a microbiota intestinal de animais aquáticos pode mudar rapidamente em função do constante fluxo de microrganismos provenientes do ambiente e alimento (Abidi, 2003). Outras características importantes para os probióticos é que estes elementos impeçam a presença ou diminuam a quantidade de microrganismos patogênicos (Vaughan et al., 2002; Dunne et al., 1999). A forma de ação do probiótico pode ser a competição por sítios de ligação, produção de inibidores ou competição por nutrientes e energia (Patra & Mohamed, 2003; Verschuere, et al., 2000a; Gildberg et al., 1997), e estimulação do sistema imunológico (Heyman & Ménard, 2002; Gill et al., 2001; Dunne et al., 1999).

A interação entre o ambiente e o hospedeiro num ambiente aquático é complexa, pois os dois dividem o mesmo ecossistema, onde os microrganismos presentes na água influenciam a microbiota do intestino do hospedeiro e vice-versa. Os gêneros presentes no intestino dos hospedeiros parecem ser aqueles microrganismos presentes no ambiente ou no alimento que conseguem sobreviver e se multiplicar neste (Verschuere, et al., 2000a). Makridis et al. (2000) demonstraram que o fornecimento de duas cepas de bactérias tanto via alimento vivo, quanto diretamente na água da incubadora de larvas de turbot (*Scophthalmus maximus*) promoveram a manutenção destas no ambiente, bem como promoveram a colonização do trato digestório das larvas.

Microrganismos de diversos gêneros são utilizados como probióticos, podendo ser destacados os *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Saccharomyces*, entre outros (Griffith et al., 2004; Denli et al., 2003; Panda et al., 2003; Heyman & Ménard, 2002; Ouwehand et al., 2002; Shu & Harsharnjit, 2001; Lee et al.,

2000; Duffy et al., 1999; Ichikawa et al., 1999; Sakata et al., 1999). De maneira geral, em humanos bactérias produtoras de ácido lático inibem o crescimento de muitos microrganismos patogênicos (Klewicki & Klewicka, 2004). *Lactobacillus casei rhamnosus* tem apresentado resultados benéficos no tratamento de diarreia, colite provocada por *Clostridium difficile*, inflamação do intestino. A gastroenterite provocada por *Helicobacter pylori*, possui efeito inibitório para *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* diarreiogênica e *Clostridium difficile* (Mattar et al., 2001).

Goldberd et al. (1997), estudando o efeito da *Carnobacterium divergens* em alevinos de Bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) expostos a banhos com *Vibrio anguillarum*, concluíram que não houve inibição do crescimento *in vitro* de *V. anguillarum*, porém houve um aumento na resistência à doença provocada pelo agente infeccioso, bem como a colonização do intestino do alevino pelo probiótico. Gram et al. (1999) demonstraram que o uso do probiótico *Pseudomonas fluorescens* AH2 diminui a mortalidade de juvenis de truta arco-íris (*Onchorynchus mykiss*) expostos ao *Vibrio anguillarum*.

*Saccharomyces boulardii*, sinônimo de *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926, apresentou efeito positivo contra problemas intestinais provocados por uma série de microrganismos patogênicos como *Escherichia coli*, *Clostridium difficile* entre outros, além da estimulação do sistema imunológico (Schroeder et al., 2004). Herek et al. (2004) concluíram que a *Saccharomyces boulardii* é capaz de proteger o balanço da flora gastrintestinal pela inibição do crescimento de bactérias Gram-negativas, auxiliar o crescimento de bactérias anaeróbicas e aumentar a resposta imunológica do hospedeiro.

Verschuere et al. (2000b) concluíram que a colonização do trato digestório de juvenis de *Artemia* sp. por uma série de cepas de bactérias específicas preveniram a proliferação de *Vibrio proteolyticus* e uma série de outros patógenos oportunistas. Nikoskelainem et al. (2001), estudando potencial de seis probióticos de uso humano e um de uso animal com vistas ao uso em peixes, demonstraram habilidade de adesão à mucosa, resistência à bile dos peixes, bem como a supressão do crescimento de patógenos como *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *Flavobacterium psychrophilum*, o que revela a possibilidade do uso destes microrganismos como probióticos em peixes. Carnevali et al. (2004) concluíram que administração conjunta de *Lactobacillus fructivorans* e *Lactobacillus plantarum*, através de alimentação seca ou viva, promoveu a colonização do intestino de larvas de sea bream (*Sparus aurata*) e a diminuição da mortalidade dos animais durante a larvicultura e alevinagem.

Algumas cepas de leveduras podem colonizar o intestino de truta arco-íris e turbot em concentrações acima de  $4 \times 10^4$  células por grama de intestino sem afetar negativamente o peixe (Andlid et al., 1995). Andlid et al. (1998) isolaram a cepa CBS 7764 de *Saccharomyces cerevisiae* e determinaram que a adesão ao muco intestinal da truta arco-íris depende do estado fisiológico da célula e que estas crescem rapidamente tendo o muco como única fonte de energia e nutrientes.

Lara-Flores et al. (2003) concluíram que a utilização da *Saccharomyces cerevisiae* para alevinos de tilápia do Nilo como promotor de crescimento, levou ao melhor crescimento e eficiência alimentar, sugerindo que a levedura é um promotor de crescimento adequado no cultivo da tilápia. Apesar do uso de levedura como probiótico apresentar efeitos significantes em humanos e animais, seus efeitos são pouco estudados na aqüicultura (Patra & Mohamed, 2003).

#### 1.4. Citação Bibliográfica

ABIDI, R. Use of probiotics in larval rearing of new candidate species. **Aquaculture Asia**, v.8, n.2, p.15-16, 2003.

ALCESTE, C.; JORY, D.E. Análisis de las tendencias actuales en la comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica y la Unión Europea. In: I CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 1998, Recife. **Anais...** Recife: SIMBRAq, 1998. p.349-364.

ANDERSON, J. JACKSON, A.J., MATTY, A.J. et al. Effects of dietary carbohydrates and fibre on the tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn.). **Aquaculture**, v. 13, p.265-272, 1984.

ANDLID, T.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; GUSTAFSSON, L. Yeast colonizing the intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). **Microbial Ecology**, v.30, p.321-334, 1995.

ANDLID, T.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; GUSTAFSSON, L. Yeast isolates from intestine of rainbow trout adhere to and grow in intestinal mucus. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, v.7, n.2, p.115-126, 1998.

BEUX, L. F.; CAMPAGNOLO, R.; BOMBARDELLI, R. A. et al. Características de carcaça de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes categorias de tamanho. In: CONGRASSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 12., 2001, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: FAEP, 2001. (CD-ROOM).

BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Métodos diretos e indiretos para a produção de populações monossexuais na tilapicultura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v.7, n.1, p.57-68, 2004.

BORGHETTI, N.R.B., OSTRENSKY, A., BORGHETTI, J.R. **Aqüicultura: Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo**. Curitiba,: Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, 2003, 128p.

BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Digestibilidade Aparente da Energia e Nutrientes de Alimentos Convencionais e Alternativos para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.13, n.2, p.539-545, 2002.

BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e proteína das farinhas de resíduo da filetagem da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), da corvina (*Plagioscion squamosissimus*) e farinha integral do camarão canela (*Macrobrachium amazonicum*) para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.8-13, 2004.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F; et al. Farinhas de peixe, carne e ossos, vísceras e crisálida como atractantes em dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1397-1402, 2001.

CARNEVALI, O.; ZAMPONI, M.C.; SULPIZIO, R.; et al. Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development. **Aquaculture International**, v.12, p.377-386, 2004.

CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189p.

CONTE, L. **Produtividade e economicidade da tilapicultura em gaiolas na região Sudoeste do Estado de São Paulo: Estudos de casos**. Piracicaba, SP: USP, 2002. 59p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração Ciência Animal e Pastagens) – Universidade de São Paulo, 2002.

COSTA, A.B. **Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica**. Piracicaba, SP: USP, 2003. 54p. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de Concentração Ciência Animal e Pastagens) – Universidade de São Paulo, 2003.

COSTA-PIERCE, B.A. Rapid evolution of an established feral tilapia (*Oreochromis* spp.): the need to incorporate invasion science into regulatory structures. **Biological Invasions**, v.5, p.71-84, 2003.

COWARD, K.; BROMAGEL, N.R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.10, p.1-25, 2000.

DEGANI, G., REVACH, A. Digestive capabilities of three commensal fish species: carp, *Cyprinus carpio* L., tilapia, *Oreochromis aureus* X *O. niloticus*, and African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchel 1822). **Aquaculture and Fisheries Management**, v.22, p. 397-403, 1991.

DENLI, M.; OKAN, F.; CELIK, K.; et al. Effect of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.2, n.2, p.89-91, 2003.

DIETERICH, F. **Avaliação de “nuggets” de pescado obtido a partir de polpa de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e Armado (*Pterodoras granulosus*)**. Toledo, PR: UNIOESTE, 2003. 37p. Monografia de Graduação (Graduação em Engenharia de Pesca) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2003.

DUFFY, L.C. LEAVENS, A.; GRIFFITHS, E.A.; et al. Perspective on bifidbacteria as biotherapeutic agents in gastrointestinal health. **Digestive diseases and Science**, v.44, n.8, p.1499-1505, 1999.

DUNNE, C.; MURPHY, L.; FLYNN; S.; et al. Probiotics: from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models and in human clinical trials. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.76. p.279-299, 1999.

EL-DAHAR, A.A.; EL-SHAZLY, K. Effect of essential amino acids (methionine and lysine) and treated oil fish diet on growth performance and feed utilization of Nile tilapia, *Tilapia nilotica* (L). **Aquaculture and Fisheries Management**, v.24, n.6, p.731-739.

EL-SAYED, A.F.M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, v.179, p.149-168, 1999.

FAO. Aquaculture production: quantities 1950-2002. Disponível em: <<http://fao.org>>. Acesso em 14 fev 2005.

FITZSIMMONS, K. Tilapia: most important aquaculture species of the 21<sup>st</sup> century. In: PROCEEDINGS FROM THE FIFTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 2000, Rio de Janeiro, **Anais...** Rio de Janeiro: ISTA, 2000. p. 3-8.

FULLER, R. A review: probiotic in man and animals. **Journal Applied Environmental Microbiology**, v.63, p.1034-1039, 1989.

GILDBERG, A.; MIKKELSEN, H.; SANDAKER, E. et al. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*). **Hydrobiologia**, v.352, p.279-285, 1997.

GILL, H.S.; RUTHERFURD, K.J.; CROSS, M.L. Dietary probiotic supplementation enhances natural killer cell activity in the elderly: an investigation of age-related immunological changes. **Journal of Clinical Immunology**, v.21, n.4, p.264-271, 2001.

GRAM, L.; MELCHIORSEN, J.; SPANGGARD, B.; et al. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. **Applies and Environmental Microbiology**, v.65, n.3, p.969-9732, 1999.

GRIFFITHS, E.A.; DUFFY, L.C.; SCHANBACHER, F.L.; et al. In vivo effects of bifidobacteria and Lactoferrin on gut endotoxin concentration and mucosal immunity in balb/c mice. **Digestive diseases and Science**, v.49, n.4, p.579-589, 2004.

HAYASHI, C. Breves considerações sobre as tilápias. In: RIBEIRO, R.P.; HAYASHI, C.; FURUYA, W.M. **Curso de piscicultura: criação racional de tilápias**. Maringá, 1995, p. 4.

HAYASHI, C., BOSCOLO, W.R., SOARES, C.M. et al. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, v.21, n.3 p.733-737, 1999.

HAYASHI, C., BOSCOLO, W.R., SOARES, C.M., MEURER, F. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.823-828, 2002.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M.; et al. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.823-828, 2002.

HEREK, Ö.; KARA, I.G.; KALELI, I. Effects of antibiotics and *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation injury. **Surgery Today**, v.34, p.256-260, 2004.

HEYMAN, M.; MÉNARD, S. Review – Probiotic microorganisms: how they affect intestinal pathophysiology. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.59, p.1151-1165, 2002.

HILDSORF, A.W.S. Genética e cultivo de tilápias vermelhas, uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.22, n.1, p. 73-78, 1995.

ICHIKAWA, H.; KUROIWA, T.; INAGAKI, A.; et al. Probiotic bacteria stimulate gut epithelial cell proliferation in rat. **Digestive diseases and Science**, v.44, n.10, p.2119-2123, 1999.

JIN, L.Z.; MARQUARDT, R.R.; ZHAO, X. A strain of *Enterococcus faecium* (18C23) inhibits adhesion of enterotoxinogenic *Escherichia coli* K88 to porcine small intestine mucus. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.10, p.4200-4204, 2000.

- KUBITZA, F. **Tilápia – tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: Divisão de Biblioteca e Documentação, 2000, 289p.
- LAHAV, E.; RA'NAN, Z. Salinity tolerance of genetically produced tilapia (*Oreochromis*) hybrids. **Bamidgeh**, v.49, n.3, p.160-165. 1997.
- LARA-FLORES, M.; OLVEA-NOVOA, M.A.; GUZMAN-MENDEZ, B.E.; et al. Use of bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 216, n.1-4, p.193-201, 2003.
- LAZARD, J; ROGNON, X. Genetic diversity of tilapia and aquaculture development in Côte D'Ivoire and Niger. **Bamidgeh**, v.49, p.2, p.90-98. 1997.
- LEE, D.J.; DRONGOWSKI, R.A.; CORAN, A.G. et al. Evaluation of probiotic treatment in neonatal animal model. **Pediatric Surgery Int**, v.16, p.237-242, 2000.
- LOVSHIN, L.L. Red tilapia or Nile tilapia: Which is the best culture fish? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 1998, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1998. p. 179-198.
- LOVSHIN, L.L. Tilápia farming: a growing worldwide aquaculture industry. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO E PEIXES, 1, 1997, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: CBNA, 1997. p.137.
- MACINTOSCH, D.J.; LITTLE, D.C. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science, 1995, p.277-320.
- MAKRIDIS, P.; FJELLHEIM, A.J.; SKJERMO, J. et al. Colonization of the gut in first feeding turbot by bacterial strains added to the water or biencapsulated in rotifers. **Aquaculture International**, v.6, p.367-380, 2000.
- MATTAR, A.F.; DRONGOWSKI, R.A.; CORAN, A.G. et al. Effect of probiotics on enterocyte bacterial translocation in vitro. **Pediatric Surgery Int**, v.17, p.265-268, 2001.
- MEURER, F.; HAYASHI, C. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de peixes - revisão. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v.6, n.2, p.127-138, 2003.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1801-1809, 2003a.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. et al. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.566-573, 2002.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; FORNARI, D.C.; et al. Milheto em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Acta Scientiarum**, no prelo, 2005.
- MEURER, F; HAYASHI, C; BOSCOLO, W.R. Influencia do processamento da ração no desempenho e sobrevivência da tilápia do Nilo durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.2, p.262-267, 2003b.

NIKOSKELANEN, S.; SALMINEN, S.; BYLUND, G. et al. Characterization of the properties of human and dairy-derived probiotics for prevention of infectious diseases in fish. **Applies and Environmental Microbiology**, v.67, n.6, p.2430-2435, 2001.

OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: an overview of beneficial effects. **Antonie von Leeuwenhoek**, v.82. p.279-289, 2002.

PANDA, A.K.; REDDY, S.V.; RAO, R.; et al. Production performance, serum/yolk cholesterol and immune competence of white leghorn layers as influenced by dietary supplementation with probiotic. **Tropical Animal Health and Production**, v.35, p.85-94, 2003.

PATRA, S.K.; MOHAMED, K.S. Enrichment of *Artemia nauplii* with the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* and its resistance against a pathogenic *Vibrio*. **Aquaculture International**, v.11, p.505-514, 2003.

POPMA, T. J. e PHELPS, R. P. Status report to commercial tilápia producers on monosex fingerling productions techniques. In: SIMPÓSIO SUL AMERICANO DE AQUICULTURA, 1, 1998, Recife. **Anais...** Florianópolis: SIMBRAQ, 1998. p.127.

SAKATA, T.; KOJIMA, T.; FUJIEDA, M.; et al. Probiotic preparations dose-dependently increase net production rates of organic acids and decrease that of ammonia by pig cecal bacteria in batch culture. **Digestive diseases and Science**, v.44, n.7, p.1485-1493, 1999.

SANTIAGO, C.B.; ALDABA, M.B.; REYES, O.S. Influence of feeding rate and diet from on growth and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. **Aquaculture**, v.64, p.277-282. 1987.

SCHROEDER, B.; WINCKLER, V.M.B.; FAILING, K. et al. Studies on the time course of probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* on electrolyte transport in pig jejunum. **Digestive Disease and Science**, v.49, p.1311-1317, 2004.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO - SEAB. **Valor bruto da produção agropecuária paranaense**. Curitiba, PR.: 2004. 85p.

SHIAU, S.Y. Utilization of carbohydrates in warmwater fish - with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, v.151, p.79-96, 1997.

SHU, Q.; HARSHARNJIT, S.G. A dietary probiotic (*Bifidobacterium lactis* HN019) reduces the severity of *Escherichia coli* 0157:H7 infection in mice. **Med Microbiol Immunol**, v.189, p.147-152, 2001.

SOCCOL, M.C.H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. Piracicaba, SP: USP, 2002. 124p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Concentração Ciência Economia Aplicada) – Universidade de São Paulo, 2002.

SONODA, D.Y. **Análise econômica de sistemas alternativos de produção de tilápias em tanques rede para diferentes mercados**. Piracicaba, SP: USP, 2002. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Concentração Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, 2002.

SOUZA, M.L.R. Comparação de seis métodos de filetagem em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1076-1084, 2002.

SOUZA, S.R.; HAYASHI, C.; GALDIOLI, E.M.; et al. Diferentes fontes de protéicas de origem vegetal para a tilápia do Nilo, durante a reversão sexual. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ/Gmosis, [2000]. CD-ROM.

TOYAMA, G.N.; CORRENTES, J.E.; CYRINO, J.E.P. Suplementação de vitamina C em rações para a reversão sexual da tilápia do Nilo. **Scientia Agrícola**, v.57, n.2, p.221-228, 2000.

VAUGHAN, E.E.; VRIES, M.C.; ZOETENDAL, E.G.; et al. The intestinal LABs. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.82, p.341-352, 2002.

VERSCHUERE, L.; HEANG, H.; CRIEL, G. et al. Selected bacterial strains protect *Artemia* spp. from the pathogenic effects of *Vibrio proteolyticus* CW8T2. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.3, p.1139-1146, 2000b.

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P; et al. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.64., v.4, p.655-671, 2000a.

VIOLA, S., ARIELI, Y. Evaluation of different grains as ingredients in complete feeds for carp and tilapia in intensive culture. **The Israeli Journal Aquaculture - BAMIDGEH**, v.35, p.38-43, 1983.

VISENTAINER, J. V.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E. et al. Composição química e de ácidos graxos em tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas à dieta prolongada. **Revista Brasileira da Carne**, v. 28, n. 313, p. 164 – 173, 2003.

ZANONI, M.A.; CAETANO FILHO, M; LEONHARDT, J.H. Performance de crescimento de diferentes linhagens de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757), em gaiolas. **Acta Scientiarum**, v.22, n.3, p.683-687,2000.

## II. OBJETIVOS GERAIS

Foram realizados três experimentos que objetivaram o estudo da inclusão de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) como probiótico em rações para as fases iniciais do cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

O objetivo do primeiro experimento foi avaliar o efeito da levedura (*S. cerevisiae*) como probiótico, em rações para a tilápia do Nilo (*O. niloticus*) durante o período de reversão sexual, sobre os parâmetros de desempenho, sobrevivência, índice hepatossomático, efetividade da reversão sexual, colonização intestinal e gêneros bacterianos.

O objetivo do segundo experimento foi avaliar o efeito da inclusão do probiótico levedura (*S. cerevisiae*) em rações para a tilápia do Nilo (*O. niloticus*) durante a fase de reversão sexual, sobre os parâmetros de desempenho, sobrevivência e colonização intestinal, recebendo esterco suíno *in natura* como desafio sanitário.

O objetivo do terceiro experimento foi de avaliar o efeito da inclusão do probiótico levedura (*S. cerevisiae*) em rações para alevinos de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), sobre os parâmetros de desempenho, sobrevivência e colonização intestinal, recebendo esterco suíno *in natura* como desafio sanitário.



## 1 **Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* to Nile Tilapia During Sexual Reversion Phase**

2

3       ABSTRACT: The object of this experiment was to evaluate the *Saccharomyces*  
4 *cerevisiae* (SC) as probiotic in rations for the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)  
5 during the period of sexual reversion. The treatments were consisted of a commercial  
6 ration of sexual reversion for tilapia contend 0.1% of SC ( $10^{10}$  SC Colony Formation  
7 Unit per g of product g) (TP) and another one without the inclusion of the probiotic  
8 (TT). Throughout the experiment the fingerlings were counted, measured, and weighed.  
9 Two fingerlings were randomly chosen for each treatment. The liver was removed,  
10 weighed, and analyzed for the hepato-somatic index (IHS). On one of these fingerlings,  
11 the intestine was removed and its content was submitted to count and identify the  
12 present bacterial sorts. Another ten fingerlings were analyzed for the effectiveness of  
13 sexual reversion (ERS). The performance, survival, ERS, and IHS were not influenced  
14 by the inclusion of SC ( $p>0.05$ ). The SC that colonized the intestine of the fingerlings of  
15 the TP, and TT was not found. Significant differences ( $p>0.05$ ) relating to the number  
16 of bacteria for g of intestinal content was not observed. The main isolated bacterial sorts  
17 were *Bacillus* spp. and *Enterococcus* spp., there were not any negative bacteria gram  
18 observed. The use of SC as probiotic rations for the Nile tilapia, during the period of  
19 sexual reversion, did not influence the productive performance, survival, effectiveness  
20 of the sexual reversion, ERS, and IHS in the system of culture without sanitary  
21 challenge. However, it provided for the settling of the intestine of this, as well as the  
22 modification of its microbiota.

23 **Key Wods:** growth promoter, Nile tilapia, probiotic, *Saccharomyces cerevisiae*, sexual  
24 reversion, yeast

25



1 acaba por aumentar a resistência bacteriana contra os antibióticos, levando ao  
2 aparecimento de bactérias cada vez mais difíceis de serem controladas por meio de  
3 antibióticos.

4 O aumento de problemas advindos de doenças leva a perdas significativas na  
5 produção aquícola, afetando o desenvolvimento econômico do setor em muitos países  
6 (Gram et al., 1999). No Brasil, com o crescimento da piscicultura intensiva observa-se o  
7 aumento da ocorrência de doenças (Costa, 2003). Como exemplo, na Finlândia bactérias  
8 como *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *Flavobacterium psychrophilum* são  
9 os agentes causadores das doenças mais comuns na aquíicultura, causando as maiores  
10 perdas econômicas no setor (Nikoskelainen et al., 2001).

11 Várias alternativas ao uso de antibióticos no controle de doenças têm sido  
12 propostas e têm tido sucesso na aquíicultura. Neste contexto, os probióticos aparecem  
13 como uma das possíveis alternativas (Nikoskelainen et al., 2001; Gram et al., 1999;  
14 Gildberg et al., 1997).

15 Probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos, suplementados por  
16 meio dos alimentos, que afetam benéficamente o hospedeiro pela melhora em seu  
17 balanço intestinal (Fuller, 1989). Já Verschuere, et al. (2000a) especificam que na  
18 aquíicultura, os probióticos não influenciam somente o hospedeiro, mas também a  
19 microbiota presente no ambiente aquático. Mattar et al (2001) afirmam que os  
20 probióticos têm a capacidade de melhorar ou prevenir uma doença.

21 *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Enterococcus*,  
22 *Saccharomyces*, entre outros, são alguns microrganismos utilizados como probióticos  
23 (Heyman & Ménard, 2002; Ouwehand et al., 2002). Patra & Mohamed (2003) afirmam  
24 que apesar do uso de *Saccharomyces* sp como probiótico em humanos e animais

1 apresentar efeitos significativos, seus efeitos são pouco estudados em organismos  
2 aquáticos.

3 O objetivo do presente experimento foi de avaliar a *Saccharomyces cerevisiae*,  
4 como probiótico em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o  
5 período de reversão sexual.

6

7

### **Material e Métodos**

8

9 O presente experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura da Pontifícia  
10 Universidade Católica do Paraná - *Campus* de Toledo, de 31 de janeiro a 28 de fevereiro  
11 de 2004. Foram utilizadas 200 larvas de tilápia do Nilo, provenientes da coleta de ovos  
12 na boca, fornecidas pela Aquicultura Tupi (Guaíra-Pr). As larvas tinham dois dias de  
13 idade, peso médio de  $9 \pm 1,15$  mg e foram distribuídas num delineamento experimental  
14 completamente casualizado com dois tratamentos e quatro repetições em oito aquários  
15 de 50 L, onde foi considerado como unidade experimental um aquário de 50 L contendo  
16 25 larvas.

17 Os aquários possuíam aeração constante por contato, através de pedras  
18 microporosas ligadas por meio de mangueiras de silicone a mini-compressores de ar de  
19 saída dupla. Os aquários foram sifonados diariamente para a retirada das fezes e  
20 eventuais restos de ração, uma vez durante a manhã (6h00) e outra no período da tarde  
21 (18h00), com a remoção de cerca de 20% da água nos primeiros dez dias e 50% até final  
22 do período experimental.

23 A água utilizada no experimento era proveniente da rede Municipal de  
24 abastecimento, portanto, tratada com cloro, o qual foi neutralizado com a adição de  
25 tiosulfato de sódio. A temperatura da água foi aferida diariamente pela manhã e à tarde.

1 Os demais parâmetros, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica da água, foram  
2 mensurados semanalmente pela manhã, sempre antes da sifonagem. A água utilizada  
3 nos aquários foi analisada em relação ao conteúdo microbiológico para coliformes e  
4 bactérias totais, segundo a metodologia descrita posteriormente.

5 Foi utilizada no experimento uma ração comercial fabricada pela Piscicultura  
6 Piracema (Maringá-Pr). A ração continha 38,6% de proteína digestível (PD), 3.800 Kcal  
7 de energia digestível (ED)/Kg de ração e 60 mg/Kg de ração de 17- $\alpha$ -metil-testosterona,  
8 formulada de acordo com as exigências preconizadas por Hayashi et al. (2002). Os  
9 valores de nutrientes digestíveis dos alimentos utilizados no cálculo das mesmas foram  
10 os determinados por Boscolo et al., (2004), Meurer et al. (2003b) e Boscolo et al.  
11 (2002).

12 Os alimentos utilizados para a fabricação da ração foram a farinha de vísceras de  
13 aves, farelo de soja, milho moído, calcário calcítico, fosfato bicálcico e um  
14 complemento vitamínico-mineral. O fornecimento de ração foi à vontade, na forma  
15 farelada (Meurer et al., 2003a), o arraçoamento foi feito numa frequência de cinco vezes  
16 ao dia, às 7h00, 10h00, 13h00, 16h00 e 19h00 (Sanchez & Hayashi, 2002).

17 O presente experimento foi composto por dois tratamentos. O tratamento  
18 testemunha (TT) utilizou a ração comercial sem a adição de probiótico. O tratamento  
19 teste (TP) possuía a inclusão de 0,1% de probiótico na ração comercial. O probiótico  
20 utilizado foi um produto que garantia a quantidade de  $10^{10}$  células vivas de  
21 *Saccharomyces cerevisiae* a cada grama deste, portanto, em cada quilograma de ração  
22 do TP existiam cerca de  $10^5$  células vivas. Estes valores foram confirmados pelo  
23 número unidades formadoras de colônia (UFC) de *S. cerevisiae*, estimado através de  
24 contagem em placa de Petri, utilizando meio seletivo para leveduras *yeast growth*  
25 *cloramphenicol* (YGC), conforme a metodologia descrita adiante.

1           Ao final do período experimental, todos os alevinos de cada unidade experimental  
2 foram contados, pesados e medidos individualmente para a determinação dos  
3 parâmetros de sobrevivência, biomassa, peso final médio, comprimento final médio e  
4 fator de condição corporal (peso corporal/comprimento corporal<sup>3</sup> x 100). Outros dez  
5 alevinos de cada unidade experimental foram conservados em formalina para a análise  
6 de efetividade de reversão sexual, conforme a metodologia de Popma & Green (1992).

7           De cada unidade experimental foram escolhidos, aleatoriamente, dois alevinos  
8 que foram insensibilizados em água gelada (cerca de 2 °C), pesados e abatidos por  
9 decapitação. Posteriormente, o fígado foi extraído para determinação do índice hepato-  
10 somático (IHS), ((peso do fígado/ peso corporal)x100). De um destes animais foi  
11 também extraído o intestino para a análise da colonização pela *S. cerevisiae*, coliformes  
12 totais, bactérias totais e determinação dos gêneros bacterianos presentes.

13           Cada animal escolhido teve o seu intestino retirado assepticamente, pesado e  
14 diluído em 2 mL de água destilada estéril num tubo de ensaio. Após este passo, o tubo  
15 contendo o intestino foi homogeneizado em vórtex. Do material homogeneizado, foram  
16 feitas diluições decimais em tubos com água destilada estéril ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ).

17           Para a contagem de bactérias totais foi utilizado o meio em ágar padrão de  
18 contagem (PCA) em placas de Petri, utilizando 1 mL das soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  
19 pura. Para a contagem de coliformes totais, foi utilizado o meio ágar violeta bile  
20 vermelho neutro (VBR) em placas de Petri, utilizando 1 mL das soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  
21  $10^{-3}$  e pura. Para a identificação dos gêneros bacterianos foram utilizadas placas de Petri  
22 contendo os meios ágar sangue e ágar Mac Conkey, que foram semeados com alíquotas  
23 do conteúdo intestinal puro, utilizando para isso uma alça de platina.

24           Para verificar a presença e efetuar a contagem da *S. cerevisiae*, foi utilizado o  
25 meio seletivo contendo YGC, em placas de Petri, utilizando 1 mL das soluções de  $10^{-1}$ ,

1  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e pura. Após o preparo das placas de Petri, as mesmas foram colocadas em  
2 uma estufa microbiológica, para incubação a 27 °C por 48 horas. Após este período  
3 foram contados as colônias e identificados os gêneros bacterianos.

4 Depois de calculados os valores de desempenho, sobrevivência, IHS, efetividade  
5 da reversão sexual, bem como os parâmetros físico-químicos da água, foram submetidos  
6 à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de  
7 probabilidade, os valores de *S. cerevisiae*, coliformes totais, bactérias totais e gêneros  
8 bacterianos foram comparados pelo teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade, ambos  
9 pelo SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1997), quando  
10 necessário.

11

## 12 **Resultados e Discussão**

13

14 A média dos resultados dos parâmetros físico-químicos da água dos aquários das  
15 unidades experimentais, temperatura da manhã, temperatura da tarde, oxigênio  
16 dissolvido, condutividade elétrica e pH são apresentados na Tabela 01. O resultado  
17 destes parâmetros não apresentou diferença estatística entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ).

18 Os resultados médios finais da biomassa, peso, comprimento, fator de condição,  
19 índice hepato-somático e sobrevivência dos alevinos das unidades experimentais, estão  
20 apresentados na Tabela 02. Os valores médios dos parâmetros estudados não diferiram  
21 entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). A efetividade da reversão sexual foi de 100%, não  
22 diferindo entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ).

23

1 Tabela 1. Parâmetros físico-químicos da água das unidades experimentais  
 2 Table 1. Quality water parameters of experimental units

Tratamento <i>Treatment</i>	TP <sup>1</sup>	TT <sup>2</sup>	CV (%)
Temperatura manhã (°C) <i>Morning temperature</i>	27,2	27,3	4,5
Temperatura tarde (°C) <i>Afternoon temperature</i>	27,1	27,2	4,1
pH	7,5	7,4	2,0
Condutividade (µSm/cm) <i>Conductivity</i>	96,0	97,6	3,0
Oxigênio dissolvido (mg/L) <i>Dissolved Oxygen<sub>2</sub></i>	6,5	6,2	7,8

4 <sup>1</sup>TP tratamento com probiótico (<sup>1</sup>*Treatment with probiotic*).

5 <sup>2</sup>TT tratamento sem probiótico (<sup>2</sup>*Treatment without probiotic*).

6  
 7 Tabela 2. Parâmetros de desempenho dos alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis*  
 8 *niloticus*) submetidos a rações com e sem probiótico

9 Table 2. Values of the parameters of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings submitted the  
 10 rations with and without probiotic

Parâmetro ( <i>Parameter</i> )	TP <sup>1</sup>	TT <sup>2</sup>	CV (%)
Biomassa (g) <i>(Biomass)</i>	37,68	40,02	6,0
Peso final médio (g) <i>(Final weight average)</i>	1,55	1,62	6,1
Comprimento final médio (cm) <i>(Final length average)</i>	4,60	4,65	1,7
Fator de condição corporal <i>(Factor of corporal condition)</i>	1,61	1,61	2,0
Sobrevivência (%) <i>(Survival)</i>	97,3	99,0	2,2
Índice hepato-somático <i>(Hepatic somatic index)</i>	1,89	2,23	12,8

12 <sup>1</sup>TP tratamento com probiótico (<sup>1</sup>*Treatment with probiotic*). <sup>2</sup>TT tratamento sem  
 13 probiótico (<sup>2</sup>*Treatment without probiotic*).

14  
 15 Os valores dos parâmetros físico-químicos da água dos aquários permaneceram  
 16 dentro dos valores recomendados para o bom desempenho do cultivo desta espécie  
 17 (Popma & Phelps, 1998). O número de bactérias e coliformes totais confirmou a boa  
 18 qualidade da água utilizada no experimento, valores estes que estão dentro dos  
 19 parâmetros para se considerar a água boa tanto para o consumo humano quanto para o  
 20 cultivo de peixes (CONAMA, 1986).

21

1            *A. S. cerevisiae* foi encontrada apenas no intestino dos alevinos submetidos ao TP,  
2            apresentando um número médio de  $1,0 \times 10^5$  UFC. O número médio das contagens de  
3            UFC de bactérias totais encontradas no intestino das tilápias do Nilo submetidas às  
4            rações com e sem probióticos não tiveram diferença significativa entre os tratamentos  
5            ( $P > 0,05$ ), apresentando valores de  $1,08 \times 10^7$  e  $1,68 \times 10^6$ , respectivamente para os  
6            alevinos do TP e TT, com o coeficiente de variação de 72,3%. Já em relação aos  
7            gêneros bacterianos, nos alevinos submetidos ao TP foi encontrada a presença do  
8            gênero *Bacillus* sp, já nos alevinos submetidos ao TT foram encontrados os gêneros  
9            *Bacillus* sp e *Enterococcus* sp., não foram observadas bactérias gram negativas  
10           comumente encontradas no trato digestório de peixes.

11           Os valores da efetividade de reversão sexual estão de acordo aos apresentados por  
12           Bombardelli et al., (2004a), Boscolo et al., (2005) e Meurer et al., (2005). Os valores  
13           encontrados podem ser considerados excelentes de acordo com a afirmação de  
14           Bombardelli et al., (2004a) de que níveis acima dos 95% de machos são excelentes.  
15           Esse é um parâmetro a ser avaliado, tão ou mais importante que o próprio desempenho  
16           produtivo, pois um lote de alevinos de peso abaixo do ideal pode se recuperar através do  
17           manejo e alimentação adequados (Meurer et al., 2005). Porém, se o mesmo lote possuir  
18           baixa taxa de reversão sexual, a engorda desse lote poderá estar seriamente prejudicada  
19           pelos problemas advindos de reprodução nos viveiros de engorda (Meurer et al., 2005;  
20           Bombardelli et al., 2004a; Meurer et al., 2003a; Toyama et al., 2000).

21           Os valores de desempenho e sobrevivência do presente experimento discordam  
22           dos apresentados por Lara-Flores et al. (2003), que utilizaram dois tipos de probióticos  
23           (*Saccharomyces cerevisiae* e uma mistura de *Streptococcus faecium* e *Lactobacillus*  
24           *acidophilus*) em um nível de inclusão semelhante ao do presente experimento (0,1%)  
25           para alevinos de tilápia do Nilo com três semanas de idade e 152,3 mg de peso médio e

1   concluíram que o *Saccharomyces cerevisiae* proporcionou um melhor desempenho após  
2   um período de nove semanas de cultivo. Makridis et al., (2000) não obtiveram efeito da  
3   adição de duas cepas de bactérias (4:44 e PB52) sobre os parâmetros de desempenho e  
4   sobrevivência durante a larvicultura do turbot (*Scophthalmus maximus*), dados que  
5   corroboram com os apresentados neste experimento.

6       Os resultados da mortalidade apresentada no presente experimento divergem de  
7   Gildberg et al. (1997), onde larvas de Bacalhau do Atlântico (*G. morhua*), expostas ao  
8   patógeno *Vibrio anguillarum* e alimentadas com a ração contendo o probiótico  
9   *Carnobacterium divergens* apresentaram uma mortalidade significativamente menor do  
10   que as que não receberam o probiótico. Os valores de mortalidade de larvas do sea  
11   bream (*Sparus aurata*), do trabalho de Carnevali et al. (2004) tiveram efeito positivo da  
12   adição de probióticos, um consórcio entre *L. plantarum* e *L. fructivorans*, dados que  
13   divergem dos apresentados neste experimento.

14       A inclusão da *S. cerevisiae* promoveu a colonização dos intestinos das tilápias do  
15   Nilo durante a fase de reversão sexual, dados que corroboram com Andlid et al. (1995)  
16   que afirmam que certas cepas de levedura podem colonizar o intestino do turbot e da  
17   truta arco-íris em valores acima de  $4 \times 10^4$  UFC. Da mesma forma, concordam com os  
18   valores apresentados por Carnevali et al. (2004), da colonização intestinal de larvas de  
19   sea bream, por *L. fructivorans* e *L. plantarum*, bem como, com os dados apresentados por  
20   Gildberg et al. (1997) para a colonização do intestino do Bacalhau do Atlântico por  
21   *C. divergens*.

22       A adição de *S. cerevisiae* à ração não proporcionou uma diminuição do número  
23   de bactérias totais presentes no intestino das tilápias do Nilo durante o período de  
24   reversão sexual, dados que concordam com os apresentados por Carnevali et al., (2004),  
25   que durante os primeiros 35 dias de cultivo de larvas de sea bream, tanto as bactérias

1 anaeróbicas quanto as aeróbicas intestinais não haviam sofrido modificação com a  
2 inclusão dos *Lactobacillus* sp. O autor anteriormente citado também demonstrou haver  
3 uma mudança significativa da microbiota após o 66º dia de cultivo. A adição de *S.*  
4 *cerevisiae* à ração de tilápias do Nilo após o período de reversão sexual influenciou no  
5 tipo de gênero encontrado, onde no TP foi encontrado apenas o gênero *Bacillus* sp. e no  
6 TT além do anterior também o *Enterococcus* sp.

7       Apesar da adição de *S. cerevisiae* à ração das tilápias do Nilo durante o período  
8 de reversão sexual não apresentar efeito significativo no desempenho, a *S. cerevisiae*  
9 possui alguns fatores que são pré-requisitos para microrganismos utilizados como  
10 probióticos, como a colonização do trato digestório (Abidi, 2003; Verschuer et al.,  
11 2000a) e a modificação da microbiota intestinal (Vaughan et al., 2002; Dunne et al.,  
12 1999).

13       Estudos relacionados ao uso de probióticos na aquicultura são raros e muitas  
14 vezes inconclusivos (Gildberg et al., 1997). Poucos são os trabalhos envolvendo a  
15 inclusão de probióticos em rações para a tilápia do Nilo, porém, em monogástricos,  
16 como aves e suínos, existem vários trabalhos nesta área (Lara-Flores et al., 2003, Lima  
17 et al., 2003; Pedroso, 2003; Loddi et al., 2000; Zuanon, et al., 1998).

18       Vários autores têm demonstrado o efeito de probióticos sobre a diminuição do  
19 desenvolvimento de microrganismos patogênicos, geralmente utilizando para este fim, a  
20 inoculação artificial de patógenos específicos (Gildberd et al., 1997; Gram et al., 1999;  
21 Verschuer et al., 2000b; Nikoskelainem et al., 2001). De acordo com Abidi (2003) os  
22 probióticos têm um efeito sobre os outros componentes da microbiota que é  
23 denominado de exclusão competitiva.

24       Um fator que deve ser ressaltado é que, animais mantidos em boas condições de  
25 manejo (nutricionais e sanitárias), muitas vezes não são constatados efeitos da inclusão

1 de probióticos sobre o desempenho destes (Lima et al., 2003). Pois nestas condições a  
2 possibilidade de contato destes animais com microrganismos patogênicos é menor  
3 (Loddi, et al., 2000; Zuanon, et al., 1998), portanto, não havendo efeito da inclusão de  
4 probióticos nas rações sobre o desempenho animal nestes casos.

5 A possibilidade da presença de microrganismos potencialmente patogênicos no  
6 ambiente do presente experimento foi reduzida em função da qualidade da água e o  
7 manejo sanitário utilizado no experimento. A água foi proveniente da rede de  
8 abastecimento do Município, portanto com baixa quantidade de microrganismos  
9 presentes, fato este comprovado pelas análises microbiológicas. As sifonagens  
10 periódicas retiravam todo o material orgânico (fezes e restos de ração) presentes no  
11 aquário. Além de que os alevinos encontravam-se em bom estado nutricional, em  
12 função da utilização de uma ração e um manejo alimentar adequado aliado às boas  
13 condições ambientais presentes (temperatura, quantidade de oxigênio, pH e da água dos  
14 aquários experimentais).

15 Portanto, a contaminação dos aquários por microrganismos potencialmente  
16 patogênicos, não ocorreu no curto período de reversão sexual, que foi de 28 dias.  
17 Fatores que devem ter sido responsáveis pelo não efeito da adição de *S. cerevisiae* à  
18 ração da tilápias do Nilo, durante o período de reversão sexual, sobre os parâmetros de  
19 desempenho e sobrevivência.

20

1

2

## Conclusões

3

4

5

6

7

8

9

10

A utilização de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) como probiótico em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual, não influenciou no desempenho produtivo, sobrevivência, efetividade da reversão sexual e índice hepato-somático, porém, proporcionou a colonização do intestino, bem como alterações na sua microbiota.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41

## Literatura Citada

- ABIDI, R. Use of probiotics in larval rearing of new candidate species. **Aquaculture Asia**, v.8, n.2, p.15-16, 2003.
- ANDLID, T.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; GUSTAFSSON, L. Yeast colonizing the intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). **Microbial Ecology**, v.30, p.321-334, 1995.
- BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Aplicação de métodos diretos e indiretos para a produção de populações monosssexuais na tilapicultura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v.7, n.1, p.57-68, 2004a.
- BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Avaliação de rações fareladas e micropelletizadas para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) – desempenho e efetividade de reversão sexual. **Acta Scientiarum**, v.26, n.2, p.197-201, 2004b.
- BORGHETTI, N.R.B., OSTRENSKY, A., BORGHETTI, J.R. **Aqüicultura: Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo**. Curitiba,: Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, 2003, 128p.
- BOSCOLO, W.R.; MEURER, F.; FEIDEN, A.; et al. Farinha de vísceras de aves em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) durante a fase de reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, no prelo, 2005.
- BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e proteína das farinhas de resíduo da filetagem da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), da corvina (*Plagioscion squamosissimus*) e farinha integral do camarão canela (*Macrobrachium amazonicum*) para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.8-13, 2004.
- BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Digestibilidade Aparente da Energia e Nutrientes de Alimentos Convencionais e Alternativos para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.13, n.2, p.539-545, 2002.
- CARNEVALI, O.; ZAMPONI, M.C.; SULPIZIO, R.; et al. Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development. **Aquaculture International**, v.12, p.377-386, 2004.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. Resolução nº 20, **Diário Oficial da União**, 30/07/1986.
- COSTA, A.B. **Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica**. Piracicaba, SP: USP, 2003. 54p. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de Concentração Ciência Animal e Pastagens) – Universidade de São Paulo, 2003.
- DUNNE, C.; MURPHY, L.; FLYNN; S.; et al. Probiotics: from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models and in human clinical trials. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.76. p.279-299, 1999.

- 1 FULLER, R. A review: probiotic in man and animals. **Journal Applied**  
2 **Environmental Microbiology**, v.63, p.1034-1039, 1989.
- 3 GILDBERG, A.; MIKKELSEN, H.; SANDAKER, E. et al. Probiotic effect of lactic acid  
4 bacteria in the feed on growth and survival of fry of Bacalhau do Atlântico (*Gadus*  
5 *morhua*). **Hydrobiologia**, v.352, p.279-285, 1997.
- 6 GRAM, L.; MELCHIORSEN, J.; SPANGGARD, B.; et al. Inhibition of *Vibrio*  
7 *anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish.  
8 **Applies and Environmental Microbiology**, v.65, n.3, p.969-9732, 1999.
- 9 HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M.; et al. Exigência de proteína  
10 digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a reversão  
11 sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.823-828, 2002.
- 12 HEYMAN, M.; MÉNARD, S. Review – Probiotic microorganisms: how they affect  
13 intestinal pathophysiology. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.59, p.1151-1165,  
14 2002.
- 15 LARA-FLORES, M.; OLVEA-NOVOA, M.A.; GUZMAN-MENDEZ, B.E.; et al. Use  
16 of bactéria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast  
17 *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).  
18 **Aquaculture**, v. 216, n.1-4, p.193-201, 2003.
- 19 LIMA, A.C.F.; PIZAURO JÚNIOR, J.M.; MACARI, M.; et al. Efeito do uso de  
20 probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte.  
21 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.200-207, 2003.
- 22 LODDI, M.M.; GONZALES, E.; TAKITA, T.S.; et al. Uso de probiótico sobre o  
23 desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista**  
24 **Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1124-1131, 2000.
- 25 MAKRIDIS, P.; FJELLHEIM, A.J.; SKJERMO, J. et al. Colonization of the gut in first  
26 feeding turbot by bacterial strains added to the water or biencapsulated in rotifers.  
27 **Aquaculture International**, v.6, p.367-380, 2000.
- 28 MATTAR, A.F.; DRONGOWSKI, R.A.; CORAN, A.G. et al. Effect of probiotics on  
29 enterocyte bacterial translocation in vitro. **Pediatric Surgery Int**, v.17, p.265-268,  
30 2001.
- 31 MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. Digestibilidade aparente de alguns  
32 alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira**  
33 **de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1801-1809,2003b.
- 34 MEURER, F.; HAYASHI, C.; FORNARI, D.C.; et al. Milheto em rações para a tilápia  
35 do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Acta Scientiarum**, no prelo,  
36 2005.
- 37 MEURER, F; HAYASHI, C; BOSCOLO, W.R. Influencia do processamento da ração  
38 no desempenho e sobrevivência da tilápia do Nilo durante a reversão sexual. **Revista**  
39 **Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.2, p.262-267,2003a.
- 40 NIKOSKELANEN, S.; SALMINEN, S.; BYLUND, G. et al. Characterization of the  
41 properties of human and dairy-derived probiotics for prevention of infectious diseases in  
42 fish. **Applies and Environmental Microbiology**, v.67, n.6, p.2430-2435, 2001.
- 43 OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: an overview of  
44 beneficial effects. **Antonie von Leeuwenhoek**, v.82. p.279-289, 2002.

- 1 PATRA, S.K.; MOHAMED, K.S. Enrichment of *Artemia nauplii* with the probiotic  
2 yeast *Saccharomyces boulardii* and its resistance against a pathogenic *Vibrio*.  
3 **Aquaculture International**, v.11, p.505-514, 2003.
- 4 PEDROSO, A.A.; **Estrutura da comunidade de *Bacteria* do trato intestinal de**  
5 **frangos suplementados com promotores de crescimento**. Piracicaba, SP: USP, 2003.  
6 103p. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de Concentração Ciência Animal e  
7 Pastagens) – Universidade de São Paulo, 2003.
- 8 POPMA, T. J.; GREEN, B. W. Aquacultural production manual: sex reversal of tilapia  
9 in earthen ponds. **Research and Development Series**, Alabama, v.35, p.1–15, 1990.
- 10 POPMA, T.J., PHELPS, R.P. Status report to commercial tilapia producers on monosex  
11 fingerling productions techniques. In: SIMPÓSIO SUL AMERICANO DE  
12 AQUICULTURA, 1, 1998, Recife. **Anais...** Florianópolis: SIMBRAQ, 1998. p.127.
- 13 SANCHES, L. E. F.; HAYASHI, C. Effect of feeding frequency on Nile tilapia,  
14 *Oreochromis niloticus* (L.) fries performance during sex reversal in hapas. **Acta**  
15 **Scientiarum**, Maringá, v.23, n.4, p.871-876, 2001.
- 16 TOYAMA, G.N.; CORRENTES, J.E.; CYRINO, J.E.P. Suplementação de vitamina C  
17 em rações para a reversão sexual da tilápia do Nilo. **Scientia Agrícola**, v.57, n.2, p.221-  
18 228, 2000.
- 19 UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG Sistema para análises**  
20 **estatísticas e genéticas**. Versão 7.1. Viçosa, MG. 150p. (Manual do usuário).
- 21 VAUGHAN, E.E.; VRIES, M.C.; ZOETENDAL, E.G.; et al. The intestinal LABs.  
22 **Antonie van Leeuwenhoek**, v.82. p.341-352, 2002.
- 23 VERSCHUERE, L.; HEANG, H.; CRIEL, G. et al. Selected bacterial strains protect  
24 *Artemia* spp. from the pathogenic effects of *Vibrio proteolyticus* CW8T2. **Applied and**  
25 **Environmental Microbiology**, v.66, n.3, p.1139-1146, 2000b.
- 26 VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P; et al. Probiotic bacteria as  
27 biological control agents in aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology**  
28 **Reviews**, v.64., v.4, p.655-671, 2000a.
- 29 ZUANON, J.A.S.; FONSECA, J.B.; ROSTAGNO, H.S.; et al. Efeito de promotores de  
30 crescimento sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**,  
31 v.27, n.5, p.999-1005, 1998.
- 32



1 **Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* to Nile Tilapia During Sexual Reversion Phase,**  
2 **Submitted to a Sanitary Challenge**

3  
4 ABSTRACT: The present experiment was carried through during 29 days and  
5 with the objective to evaluate the *Saccharomyces cerevisiae* (SC) probiotic rations for  
6 the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during sexual reversion period, submitted to a  
7 sanitary challenge. There were 300 two day old larvae used, weighing  $8.9 \pm 1.02$  mg,  
8 and  $0.71 \pm 0.09$  cm, distributed in a completely random design with two treatments and  
9 six repetitions in twelve aquariums of 50 L. Sanitary challenge was supplied daily of 0.5  
10 ml of fresh swine manure. Treatments consisted of a commercial ration of sexual  
11 reversion for tilapia. The first content consisted of 0.1% of *S. cerevisiae* (TP) and the  
12 other one without the inclusion of the probiotic (TT). The larvae were fed five times a  
13 day to the will. Throughout the experiment the fryes were counted, measured, and  
14 weighed. Two fryes were randomly chosen for each treatment. The intestines were  
15 removed and weighed. Their content was submitted to count the number of bacteria and  
16 total present coliforms. The performance and survival were not influenced by the  
17 inclusion of SC ( $p>0.05$ ). The SC that colonized the intestine of the fryes of TP and TT  
18 were not found. Significant differences ( $p>0.05$ ) were not observed in the bacteria and  
19 total coliformes number per g of intestinal content and the aquariums' water. The use of  
20 *Saccharomyces cerevisiae* as probiotic rations for the Nile tilapia (*Oreochromis*  
21 *niloticus*) during the period of sexual reversion promoted the settling of the intestine.  
22 However, it did not influence the performance, survival and hepato-somatic index, in a  
23 system of culture with sanitary challenge.

24 **Key Wods:** growth promoter, Nile tilapia, probiotic, *Saccharomyces cerevisiae*,  
25 sanitary challenge, sexual reversion

26

27

## Introdução

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

A tilápia do Nilo é o segundo peixe de água doce mais cultivado em todo o mundo, ficando atrás apenas das carpas (Alceste & Jorry, 1998). A produção mundial anual de tilápias ultrapassa as 1.385.000 t e sua criação está em contínua expansão (Borguetti et al. 2003). Os maiores produtores mundiais encontram-se no continente asiático (FAO, 2005) e dentre as espécies de tilápia cultivadas no mundo a *O. niloticus* é a mais utilizada (Lazard & Rognon, 1997).

A utilização de antibióticos para o controle de infecções tem apresentado um sucesso limitado na prevenção ou cura de infecções na aquicultura. O uso massivo de antibióticos para o controle de doenças ou como promotores de crescimento, aumenta a pressão de seleção sobre os microrganismos, levando naturalmente ao aumento da resistência bacteriana. Além da proliferação das bactérias resistentes após a morte das bactérias não resistentes ao antibiótico, há também a possibilidade da transferência dos genes de resistência a outras bactérias que nunca foram expostas a tal antibiótico (Verschuere et al., 2000a).

Uma série de alternativas ao uso de antibióticos no controle de doenças têm sido propostas e têm tido sucesso na aquicultura. Dos quais, os probióticos aparecem como uma das possíveis alternativas (Nikoskelainen et al., 2001; Gram et al., 1999; Gildberg et al., 1997). De acordo com Fuller (1989), os probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos, suplementados por meio do alimento, que afetam benéficamente o hospedeiro pela melhora em seu balanço intestinal. Verschuere, et al. (2000a), acrescentam que os probióticos podem exercer efeito sobre os microrganismos presentes no ambiente aquático e Mattar et al (2001) citam que os probióticos podem melhorar ou prevenir doenças.

1 A interação entre o ambiente e o hospedeiro num ambiente aquático é complexa,  
2 pois os dois dividem o mesmo ecossistema, onde os microrganismos presentes na água  
3 influenciam a microbiota do intestino do hospedeiro e vice-versa, os gêneros presentes  
4 no intestino dos hospedeiros parecem ser aqueles microrganismos presentes no  
5 ambiente ou no alimento que conseguem sobreviver e se multiplicar neste (Verschuere,  
6 et al., 2000a).

7 Vários autores têm demonstrado o efeito de probióticos sobre a diminuição do  
8 desenvolvimento de microrganismos patogênicos, geralmente utilizando para este fim, a  
9 inoculação artificial de patógenos específicos (Gildberd et al., 1997; Gram et al., 1999;  
10 Verschuere et al., 2000b; Nikoskelainem et al., 2001). Um fator que deve ser ressaltado  
11 é que, animais mantidos em boas condições de manejo (nutricionais e sanitárias), muitas  
12 vezes não são constatados efeitos da inclusão de probióticos sobre o desempenho do  
13 animal (Lima et al., 2003). Pois nestas condições a possibilidade de contato destes  
14 animais com microrganismos patogênicos é menor (Loddi et al., 2000; Zuanon et al.,  
15 1998), portanto, não podendo não haver efeito da inclusão de probióticos nas rações  
16 sobre o desempenho animal nestes casos.

17 Meurer et al. (2004) não verificaram efeito da adição da *Saccharomyces*  
18 *cerevisiae* no desempenho da tilápia do Nilo durante o período de reversão sexual.  
19 Citando que o resultado encontrado poderia ser em função de não haver a presença de  
20 microrganismos potencialmente patogênicos no ambiente experimental. Entretanto,  
21 Lara-Flores et al. (2003) encontraram efeito da *S. cerevisiae* no desempenho e  
22 sobrevivência de alevinos de tilápia do Nilo, porém neste caso alguns fatores de estresse  
23 foram utilizados.

24

1 Um dos manejos bastante utilizados na aquicultura é a utilização da fertilização  
2 de viveiros, principalmente nas fases iniciais do cultivo (Palhares et al., 1998). Um dos  
3 fertilizantes usualmente utilizados é o esterco suíno, geralmente em propriedades que  
4 possuem a suinocultura (Menti et al., 2003). O objetivo deste manejo é baratear a  
5 atividade, pois a tilápia do Nilo é uma espécie que utiliza tanto a dieta artificial quanto a  
6 natural ou seu consórcio (Meurer et al., 2003a; Meurer et al., 2002).

7 Porém, o fornecimento de esterco *in natura* pode levar à contaminação do  
8 ambiente aquático por microrganismos patogênicos (Muratori et al., 2001). Portanto,  
9 apesar do efeito benéfico do esterco suíno sobre o alimento natural dos viveiros, este  
10 pode vir a se tornar um desafio sanitário aos peixes presentes nos tanques. Pois, de  
11 acordo com Abidi (2003) os microrganismos patogênicos são oportunistas e estão  
12 geralmente no ambiente aquático natural.

13 O objetivo do presente experimento foi avaliar o efeito da inclusão do probiótico  
14 *Saccharomyces cerevisiae* em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)  
15 durante a fase de reversão sexual, sobre os parâmetros de desempenho, sobrevivência e  
16 colonização intestinal, recebendo um desafio sanitário.

17

18

## Material e Métodos

19

20 Esta pesquisa foi realizada no Laboratório de Aquicultura da Pontifícia  
21 Universidade Católica do Paraná - *Campus* de Toledo, de 12 de março a 11 de abril de  
22 2004. Foram utilizados 300 larvas de tilápia do Nilo, com dois dias de idade, peso e  
23 comprimento médio de, respectivamente,  $8,9 \pm 1,02$  mg e  $0,71 \pm 0,09$  cm, provenientes  
24 da Aquicultura Tupi (Guaíra-Pr). As larvas foram distribuídas num delineamento

1 completamente casualizado com dois tratamentos e seis repetições, em 12 aquários de  
2 50 L. Foi considerado como unidade experimental um aquário de 50 L com 25 larvas.

3 Os aquários eram equipados com um sistema de aeração composto por pedras  
4 microporosas ligadas por meio de mangueiras de silicone a mini-compressores de ar.  
5 Diariamente, os aquários foram sifonados para a retirada das fezes e restos de ração,  
6 durante a manhã (6h00) e à tarde (18h00), com a troca de cerca de 20% da água nos  
7 primeiros dez dias e 50% até final do período experimental.

8 A água utilizada no experimento foi proveniente da rede Municipal de  
9 abastecimento, sendo o cloro neutralizado pela adição de tiosulfato de sódio. A  
10 temperatura da água foi aferida diariamente pela manhã e à tarde. Os outros parâmetros  
11 como o pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica da água, foram quantificados  
12 semanalmente pela manhã, sempre antes da sifonagem.

13 Diariamente, cerca de 30 mL de fezes de suínos *in natura* eram dissolvidos em  
14 600 mL de água destilada e cada aquário recebeu 10 mL desta mistura, manejo este,  
15 feito durante o período da manhã logo após a sifonagem. Em termos práticos, a adição  
16 diária de esterco suíno correspondeu a 100 L a cada 10.000 m<sup>3</sup> de água, ou 3.000 L por  
17 10.000 m<sup>3</sup> mensalmente. O fornecimento deste material foi considerado como desafio  
18 sanitário. O esterco suíno era proveniente de um lote de suínos em terminação de uma  
19 propriedade rural do Município de Toledo - PR. O mesmo era coletado e estocado em  
20 uma geladeira e utilizado por um período de uma semana, as sobras eram descartadas e  
21 então coletado e armazenado novamente.

22 Para a confirmação do desafio sanitário imposto, a água utilizada nos aquários  
23 experimentais depois de contaminada pelas fezes suínas foi analisada semanalmente,  
24 quanto ao número de bactérias e coliformes totais, antes da sifonagem da manhã. O

1 esterco suíno também foi analisado quanto ao número de coliformes totais, após a sua  
2 coleta na propriedade, conforme metodologia descrita adiante.

3 Foi utilizada no experimento uma ração comercial fabricada pela Piscicultura  
4 Piracema (Maringá-Pr). A ração continha 38,6% de proteína digestível (PD), 3.800 Kcal  
5 de energia digestível (ED)/Kg de ração e 60 mg/Kg de ração de 17- $\alpha$ -metil-testosterona,  
6 formulada de acordo com as exigências preconizadas por Hayashi et al. (2002). Os  
7 valores de nutrientes digestíveis dos alimentos utilizados no cálculo das mesmas foram  
8 os determinados por Boscolo et al., (2004), Meurer et al. (2003a) e Boscolo et al.  
9 (2002).

10 Os alimentos utilizados para a fabricação da ração foram a farinha de vísceras de  
11 aves, farelo de soja, milho moído, calcário calcítico, fosfato bicálcico e um  
12 complemento vitamínico-mineral. O fornecimento de ração foi à vontade, na forma  
13 farelada (Meurer et al., 2003b), o arraçoamento foi feito numa frequência de cinco vezes  
14 ao dia, às 7h00, 10h00, 13h00, 16h00 e 19h00 (Sanchez & Hayashi, 2002).

15 O presente experimento foi composto de dois tratamentos, um tratamento  
16 testemunha (TT) e o tratamento com probiótico (TP), ambos tratamentos utilizaram a  
17 mesma ração experimental base, entretanto, à ração experimental do TP foi incluído  
18 0,1% de probiótico.

19 O probiótico consistia de um produto comercial contendo dez bilhões de células  
20 vivas/g de *Saccharomyces cerevisiae*, portanto, cada quilograma de ração do tratamento  
21 TP possuía cerca de um milhão de células vivas. Os valores do número de leveduras por  
22 kg de produto, bem como de ração foram analisados através de contagem em placa,  
23 utilizando meio seletivo para leveduras *yeast growth chloramphenicol* (YGC), conforme  
24 metodologia descrita adiante.

1           As análises microbiológicas executadas no presente experimento tiveram como  
2 objetivo a determinação de *S. cerevisiae*, coliformes e bactérias totais. Inicialmente,  
3 uma amostra do material a ser analisado foi pesado e diluído em 2 mL de água destilada  
4 estéril num tubo de ensaio. Após este passo, o tubo contendo o material para análise foi  
5 homogeneizado em vórtex. Do material homogeneizado, foram feitas diluições decimais  
6 em tubos com água destilada estéril, as diluições utilizadas foram,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ .

7           Para a contagem de bactérias totais foi utilizado o meio em ágar padrão de  
8 contagem Agar padrão de contagem (PCA) em placas de Petri, utilizando 1 mL das  
9 soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e pura. Para a contagem de coliformes totais, foi utilizado o  
10 meio ágar violeta bile vermelho neutro (VBR), em placas de Petri, utilizando 1 mL das  
11 soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e puro. Para verificar a presença e efetuar a contagem da *S.*  
12 *cerevisiae*, foi utilizado o meio seletivo *yeast growth chloramphenicol* (YBR), em placas  
13 de Petri, utilizando 1 mL das soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e pura. Após o preparo das  
14 placas de Petri, as mesmas foram colocadas em uma estufa microbiológica, para  
15 incubação a 27 °C por 48 horas.

16           Ao final do período experimental, todos os alevinos de cada unidade experimental  
17 foram contados, pesados e medidos individualmente para a determinação dos  
18 parâmetros de sobrevivência, biomassa, peso final médio, comprimento final médio e  
19 fator de condição corporal (obtido através da expressão peso corporal/comprimento  
20 corporal<sup>3</sup> x100).

21           De cada unidade experimental foram escolhidos aleatoriamente, dois alevinos que  
22 foram insensibilizados em água gelada (cerca de 2 °C), pesados e abatidos.  
23 Posteriormente, o intestino foi extraído assepticamente, para a determinação de *S.*  
24 *cerevisiae*, coliformes e bactérias totais.



1

2 Tabela 03. Número médio das contagens de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de  
3 bactérias e coliformes totais da água dos aquários experimentais e do  
4 intestino de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a  
5 rações com e sem probiótico

6 Table 03. Average number of the countings of Units of Colony Formation (UFC) of bacteria and total  
7 coliforms of the water of the experimental aquariums and the intestine of Nile tilapia  
8 (*Oreochromis niloticus*) fry submitted the rations with and without probiotic  
9

Microrganismos	TP <sup>1</sup>	TT <sup>2</sup>	CV (%)
<i>Microrganisms</i>			
Coliformes totais (UFC/mL)	3,05 x 10 <sup>2</sup> a	9,93 x 10 <sup>2</sup> b	96,17
<i>Total Coliforms (UFC/mL)</i>			
Bactérias totais (UFC/mL)	4,81 x 10 <sup>4</sup> a	4,16 x 10 <sup>4</sup> a	170,55
<i>Total Bacteria (UFC/mL)</i>			
Coliformes totais (UFC/g intestino)	3,33 a	38,33 b	169,14
<i>Total Coliforms (UFC/g of intestine)</i>			
Bactérias totais (UFC/g intestino)	4,5x10 <sup>5</sup> a	2,4x10 <sup>5</sup> a	157,73
<i>Total Bacteria (UFC/g of intestine)</i>			

10 <sup>1</sup>TP tratamento com probiótico (<sup>1</sup>Treatment with probiotic). <sup>2</sup>TT tratamento sem  
11 probiótico (<sup>2</sup>Treatment without probiotic). Letras diferentes na mesma linha diferem  
12 pelo Teste de Wilcoxon.  
13

14 O número médio de UFC de coliformes totais encontrados no esterco suíno,  
15 utilizado para o desafio sanitário foi de 8x10<sup>5</sup> (±7,4x10<sup>2</sup>). O número de UFC de  
16 levedura (*S. cerevisiae*) no produto e na mistura final da ração confirmou os valores de  
17 garantia do produto (10<sup>10</sup>UFC/Kg probiótico), bem como da quantidade desta  
18 adicionado à ração (10<sup>5</sup>UFC/Kg ração). O número de UFC de *S. cerevisiae* encontrado  
19 por g de intestino dos alevinos do TP foi de 1,79x10<sup>3</sup> (±650), no TT nenhuma UFC de  
20 *S. cerevisiae* foi encontrada.

21 Os resultados médios finais da biomassa, peso individual, comprimento  
22 individual, fator de condição e sobrevivência dos alevinos das unidades experimentais,  
23 estão apresentados na Tabela 04. Os valores médios dos parâmetros estudados não  
24 diferiram entre os tratamentos (P>0,05).

25

26

1 Tabela 04. Valores dos parâmetros mensurados e calculados da tilápia do Nilo  
 2 (*Oreochromis niloticus*) submetidos a rações com e sem probiótico, durante  
 3 a fase de reversão sexual.

4 *Table 04. Values of the measurements and calculated parameters Nile tilapia (Oreochromis niloticus)*  
 5 *submitted the rations with and without probiótico, during reversion phase.*  
 6

Parâmetro <i>Parameter</i>	TP <sup>1</sup>	TT <sup>2</sup>	CV (%)
Biomassa (g) <i>Biomass</i>	6,69	6,79	38,28
Peso final (g) <i>Final weight</i>	0,46	0,44	36,18
Comprimento (cm) <i>Lenght</i>	3,06	3,02	11,4
Fator de condição corporal <i>Body condiction factor</i>	1,50	1,52	4,15
Sobrevivência (%) <i>Survival</i>	60,67	62,00	25,45

7 <sup>1</sup>TP tratamento com probiótico (<sup>1</sup>*Treatment with probiotic*).

8 <sup>2</sup>TT tratamento sem probiótico (<sup>2</sup>*Treatment without probiotic*).

9

10 O fornecimento diário de esterco suíno foi considerado como desafio sanitário, em  
 11 função dos valores de coliformes totais encontrados na água dos aquários experimentais,  
 12 os quais estavam acima do nível máximo estabelecido pela resolução do CONAMA  
 13 (1986) para água destinada à aqüicultura. Fato este, que concorda com a afirmação de  
 14 Menti et al. (2003) que o esterco suíno pode comprometer o aspecto sanitário da água  
 15 em função da possibilidade da presença de microrganismos patogênicos nas fezes  
 16 lançadas aos viveiros.

17 O objetivo do desafio sanitário foi promover um ambiente adverso ao peixe,  
 18 proporcionando a possibilidade de contato do peixe com microrganismos patogênicos,  
 19 pois animais mantidos em boas condições de manejo (nutricionais e sanitárias)  
 20 dificilmente vão apresentar algum efeito positivo da inclusão de probióticos sobre o seu  
 21 desempenho (Lima et al., 2003). Nestas condições a possibilidade de contato destes  
 22 animais com microrganismos patogênicos é menor (Loddi, et al., 2000; Zuanon, et al.,  
 23 1998). Entretanto, o tratamento com o probiótico não promoveu nenhuma melhora no  
 24 desempenho bem como no número de UFC de bactérias totais do intestino e água,

1 porém foi eficiente na diminuição do número de UFC de coliformes totais presentes na  
2 água e no intestino destes.

3 Os valores de desempenho e sobrevivência do presente experimento estão de  
4 acordo com os dados apresentados por Makridis et al., (2000) que não encontraram  
5 efeito do fornecimento de duas cepas de bactérias (4:44 e PB52) sobre os parâmetros de  
6 desempenho e sobrevivência durante a larvicultura do turbot (*Scophthalmus maximus*).  
7 Da mesma forma, os valores de desempenho e sobrevivência deste experimento  
8 concordam com os apresentados por Meurer et al. (2004) em relação ao não efeito da  
9 inclusão de *S.cerevisiae* em rações para a tilápia do Nilo durante a fase de reversão  
10 sexual, sobre os parâmetros anteriormente citados. Entretanto, discordam dos valores de  
11 desempenho e sobrevivência apresentados por Lara-Flores et al. (2003), onde a inclusão  
12 de *Saccharomyces cerevisiae* em rações de alevinos de tilápia do Nilo apresentou um  
13 efeito positivo após um período de nove semanas de cultivo.

14 Os níveis de sobrevivência deste experimento discordam dos apresentados por  
15 Carnevali et al., (2004) e Gildberg et al. (1997). O primeiro autor encontrou um efeito  
16 positivo da adição de probióticos (*L. plantarum* e *L. fructivorans*) sobre a sobrevivência  
17 de larvas do sea bream (*Sparus aurata*). O segundo autor demonstrou que a adição de  
18 *Carnobacterium divergens* em rações para larvas de Bacalhau do Atlântico (*G.*  
19 *morhua*), expostos ao patógeno *Vibrio anguillarum* apresentaram uma mortalidade  
20 significativamente menor do que as que não receberam o probiótico. Gram et al. (1999),  
21 também apresentaram resultados contraditórios ao presente experimento, quanto à  
22 sobrevivência de juvenis de truta arco-íris, onde a utilização do probiótico  
23 *Pseudomonas fluorescens* AH2 aumentou a sobrevivência destes peixes quando  
24 submetidos à infecção com *Vibrio anguillarum*.

1 Os valores de colonização do intestino pelo probiótico apresentados neste  
2 experimento estão de acordo com Carnevali et al. (2004), que verificaram a colonização  
3 do intestino de larvas de sea bream através do fornecimento de *L. fructivorans* e *L.*  
4 *plantarum*. Da mesma forma, concordam com Costa et al. (2004), os quais  
5 demonstraram que a inclusão de *S. cerevisiae* proporcionou a colonização do intestino  
6 da tilápia do Nilo durante a fase de reversão sexual. Os valores determinados por  
7 Gildberg et al. (1997) para a colonização do intestino do Bacalhau do Atlântico por *C.*  
8 *divergens*, também corroboram com os do presente experimento, o que está de acordo  
9 com a afirmação de Andlid et al. (1995), que verificaram que algumas cepas de levedura  
10 podem colonizar o intestino do turbot e da truta arco-íris em número superiores à  $4 \times 10^4$   
11 UFC, sem causar alterar seu desempenho.

12 O efeito da adição do probiótico sobre o número de UFC de bactérias totais  
13 apresentados neste experimento está de acordo com Costa et al. (2004), onde não foi  
14 verificado nenhum efeito significativo da inclusão da *S. cerevisiae* sobre o número de  
15 UFC de bactérias totais em intestinos da tilápia do Nilo durante a fase de reversão  
16 sexual. Carnevali et al. (2004) também apresentaram um efeito que corrobora com o  
17 presente experimento, onde durante os primeiros 35 dias de cultivo de larvas de sea  
18 bream, não houve efeito da inclusão de *Lactobacillus* sp sobre o número de bactérias  
19 intestinais.

20 Apesar de não apresentar efeito sobre o número de bactérias totais do intestino e  
21 do ambiente aquático, a inclusão da levedura causou um efeito positivo sobre os  
22 coliformes totais, a diminuição do seu número de UFC. Este fator pode ser considerado  
23 positivo, pois dentro de coliformes totais encontram-se microrganismos como  
24 *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Proteus* sp., os quais são potencialmente patogênicos  
25 para humanos, portanto melhorando a qualidade do produto e do ambiente aquático.

1           A inclusão da levedura nas rações da tilápia do Nilo durante o período de  
2 reversão sexual apresentou resultados que são pré-requisitos para um microrganismo ser  
3 considerado um probiótico, como a colonização intestinal (Abidi, 2003; Verschuere et  
4 al., 2000a), a modificação da microbiota intestinal (Vaughan et al., 2002; Dunne et al.,  
5 1999) e a melhora do seu balanço intestinal (Fuller, 1989). O efeito da levedura no  
6 ambiente aquático concorda com a afirmação de Verschuere et al (2000a), que um dos  
7 efeitos dos probióticos na aquicultura é o seu papel sobre mudança da microbiota  
8 presentes neste ambiente.

9           O período experimental pode ter tido um papel fundamental no resultado do  
10 presente experimento. Na tilapicultura, o período de reversão sexual é de cerca de um  
11 mês. Lara-Flores et al. (2003) obtiveram um efeito significativo da adição do probiótico  
12 (*S. cerevisiae*) sobre o desempenho de alevinos de tilápia do Nilo após um período  
13 experimental de nove semanas. Carnevali et al., (2004) também verificaram que durante  
14 os primeiros 35 dias da larvicultura não houve efeito do probiótico (*Lactobacillus* sp),  
15 verificando efeito significativo depois do segundo mês.

16

1

2

## Conclusões

3

4

5

6

7

8

A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual promoveu a colonização do intestino e diminuiu o número de coliformes totais do intestino e do ambiente aquático de um sistema de cultivo com desafio sanitário.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41

## Literatura Citada

- ABIDI, R. Use of probiotics in larval rearing of new candidate species. **Aquaculture Asia**, v.8, n.2, p.15-16, 2003.
- ALCESTE, C.; JORY, D.E. Análisis de las tendencias actuales en la comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica y la Unión Europea. In: I CONGRESO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 1998, Recife. **Anais...** Recife: SIMBRAq, 1998. p.349-364.
- ANDLID, T.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; GUSTAFSSON, L. Yeast colonizing the intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). **Microbial Ecology**, v.30, p.321-334, 1995.
- BORGUETTI, N.R.B.; OSTRENSKY, A.; BORGUETTI, J.R. **Aqüicultura – Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no Mundo**. Curitiba: Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, 2003. 129p.
- BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e proteína das farinhas de resíduo da filetagem da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), da corvina (*Plagioscion squamosissimus*) e farinha integral do camarão canela (*Macrobrachium amazonicum*) para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.8-13, 2004.
- BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Digestibilidade Aparente da Energia e Nutrientes de Alimentos Convencionais e Alternativos para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.13, n.2, p.539-545, 2002.
- CARNEVALI, O.; ZAMPONI, M.C.; SULPIZIO, R.; et al. Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development. **Aquaculture International**, v.12, p.377-386, 2004.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. Resolução nº 20, **Diário Oficial da União**, 30/07/1986.
- COSTA, M.M.; MEURER, F.; HAYASHI, C.; et al. Microflora intestinal de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração contendo probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004. Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004, p.019.
- DUNNE, C.; MURPHY, L.; FLYNN, S.; et al. Probiotics: from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models and in human clinical trials. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.76. p.279-299, 1999.
- FAO. Aquaculture production: quantities 1950-2002. Disponível em: <<http://fao.org>>. Acesso em 14 fev 2005.
- FULLER, R. A review: probiotic in man and animals. **Journal Applied Environmental Microbiology**, v.63, p.1034-1039, 1989.

- 1 GILDBERG, A.; MIKKELSEN, H.; SANDAKER, E. et al. Probiotic effect of lactic acid  
2 bacteria in the feed on growth and survival of fry of Bacalhau do Atlântico (*Gadus*  
3 *morhua*). **Hydrobiologia**, v.352, p.279-285, 1997.
- 4 GRAM, L.; MELCHIORSEN, J.; SPANGGARD, B.; et al. Inhibition of *Vibrio*  
5 *anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish.  
6 **Applies and Environmental Microbiology**, v.65, n.3, p.969-9732, 1999.
- 7 HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M.; et al. Exigência de proteína  
8 digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a reversão  
9 sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.823-828, 2002.
- 10 KUBITZA, F. **Tilápia – tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí:  
11 Divisão de Biblioteca e Documentação, 2000, 289p.
- 12 LARA-FLORES, M.; OLVEA-NOVOA, M.A.; GUZMAN-MENDEZ, B.E.; et al. Use  
13 of bactéria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast  
14 *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).  
15 **Aquaculture**, v. 216, n.1-4, p.193-201, 2003.
- 16 LAZARD, J; ROGNON, X. Genetic diversity of tilapia and aquaculture development in  
17 Côte D'Ivoire and Niger. **Bamidgeh**, v.49, p.2, p.90-98. 1997.
- 18 LIMA, A.C.F.; PIZAURO JÚNIOR, J.M.; MACARI, M.; et al. Efeito do uso de  
19 probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte.  
20 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.200-207, 2003.
- 21 LODDI, M.M.; GONZALES, E.; TAKITA, T.S.; et al. Uso de probiótico sobre o  
22 desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista**  
23 **Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1124-1131, 2000.
- 24 MAKRIDIS, P.; FJELLHEIM, A.J.; SKJERMO, J. et al. Colonization of the gut in first  
25 feeding turbot by bacterial strains added to the water or biencapsulated in rotifers.  
26 **Aquaculture International**, v.6, p.367-380, 2000.
- 27 MATTAR, A.F.; DRONGOWSKI, R.A.; CORAN, A.G. et al. Effect of probiotics on  
28 enterocyte bacterial translocation in vitro. **Pediatric Surgery Int**, v.17, p.265-268,  
29 2001.
- 30 MENTI, M.M.; SIGNOR, A.; FRECCIA, A.; et al. Investigação de *Salmonella* em  
31 diferentes sistemas de cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In:  
32 CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 13., 2003, Porto  
33 Seguro. **Anais...** Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Engenharia de Pesca, 2003,  
34 p.1104-1109.
- 35 MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. Digestibilidade aparente de alguns  
36 alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira**  
37 **de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1801-1809,2003b.
- 38 MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. et al. Lipídeos na alimentação de  
39 alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira**  
40 **de Zootecnia**, v.31, n.2, p.566-573, 2002.
- 41 MEURER, F. Produção de tilápias. In: CONGRESSO PARANAENSE DOS  
42 ESTUDANTES DE ZOOTECNIA, 23, 2002, Maringá. **Anais...** Maringá: Furtado, C.E;  
43 et al. 2002, s/n.

- 1 MEURER, F; HAYASHI, C; BOSCOLO, W.R. Influencia do processamento da ração  
2 no desempenho e sobrevivência da tilápia do Nilo durante a reversão sexual. **Revista**  
3 **Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.2, p.262-267,2003a.
- 4 MEURER, F.; HAYASHI, C.; COSTA, M.M.; et al. Uso da *Saccharomyces cerevisiae*  
5 como probiótico para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de  
6 reversão sexual. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE  
7 ZOOTECNIA, 41., 2004. Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira  
8 de Zootecnia, 2004, aqua 027.
- 9 MURATORI, M.C.S.; MARTINS, N.E.; PEIXOTO, M.T.D.; et al. Mortalidade por  
10 “septicemia dos peixes tropicais” em tilápias criadas em consorciação com suínos.  
11 **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.6, p.658-662, 2001.
- 12 NIKOSKELANEN, S.; SALMINEN, S.; BYLUND, G. et al. Characterization of the  
13 properties of human and dairy-derived probiotics for prevention of infectious diseases in  
14 fish. **Applies and Environmental Microbiology**, v.67, n.6, p.2430-2435, 2001.
- 15 PALHARES, J.C.P.; LUCAS JÚNIOR, J.; SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Efeito da  
16 aplicação de estrume de suínos, fresco e fermentado em biodigestores, na qualidade da  
17 água para a aqüicultura. **Energia na Aqüicultura**, v.13, n.4, p.32-39, 1998.
- 18 POPMA, T.J., PHELPS, R.P. Status report to commercial tilápia producers on monosex  
19 fingerling productions techniques. In: SIMPÓSIO SUL AMERICANO DE  
20 AQUICULTURA, 1, 1998, Recife. **Anais...** Florianópolis: SIMBRAQ, 1998. p.127.
- 21 SANCHES, L. E. F.; HAYASHI, C. Effect of feeding frequency on Nile tilapia,  
22 *Oreochromis niloticus* (L.) fries performance during sex reversal in hapas. **Acta**  
23 **Scientiarum**, Maringá, v.23, n.4, p.871-876, 2001.
- 24 UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG Sistema para análises**  
25 **estatísticas e genéticas**. Versão 7.1. Viçosa, MG. 150p. (Manual do usuário).
- 26 VAUGHAN, E.E.; VRIES, M.C.; ZOETENDAL, E.G.; et al. The intstinal LABs.  
27 **Antoinie von Leeuwenhoek**, v.82. p.341-352, 2002.
- 28 VERSCHUERE, L.; HEANG, H.; CRIEL, G. et al. Selected bacterial strains protect  
29 *Artemia* spp. from the pathogenic effects of *Vibrio proteolyticus* CW8T2. **Applied and**  
30 **Environmental Microbiology**, v.66, n.3, p.1139-1146, 2000b.
- 31 VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P; et al. Probiotic bacteria as  
32 biological control agents in aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology**  
33 **Reviews**, v.64., v.4, p.655-671, 2000a.
- 34 ZUANON, J.A.S.; FONSECA, J.B.; ROSTAGNO, H.S.; et al. Efeito de promotores de  
35 crescimento sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**,  
36 v.27, n.5, p.999-1005, 1998.
- 37
- 38

1 **V. *Saccharomyces cerevisiae* como Probiótico para Alevinos de Tilápia do Nilo**

2 **Submetidos um Desafio Sanitário**

3  
4 RESUMO: O presente experimento foi realizado de 16/03 a 01/05 de 2004 com o  
5 objetivo de avaliar a *Saccharomyces cerevisiae* (SC) como probiótico em rações para  
6 alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a um desafio sanitário.  
7 Foram utilizadas 60 alevinos com cerca de 30 dias de idade, pesando  $0,45 \pm 0,02$  g e  
8  $3,10 \pm 0,14$  cm, distribuídos num delineamento completamente casualizado com dois  
9 tratamentos e seis repetições em 12 aquários de 50 L. Como desafio sanitário cada  
10 aquário recebeu diariamente o equivalente a 0,5 mL de esterco de suíno *in natura*. Os  
11 tratamentos constituíram-se de uma ração contendo 0,1% de SC (TP) e outro sem  
12 probiótico (TT). Ao final do experimento os alevinos foram contados, medidos e  
13 pesados. Dois alevinos de cada tratamento foram escolhidos aleatoriamente, retirado e  
14 pesado seus intestinos. O seu conteúdo foi submetido à contagem do número de  
15 bactérias e coliformes totais presentes. O desempenho e sobrevivência não foram  
16 influenciados pela inclusão de SC ( $p>0,05$ ). A SC colonizou o intestino dos alevinos do  
17 TP e não foi encontrada TT. Não foram observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ )  
18 quanto ao número de bactérias e coliformes totais por g de conteúdo intestinal e por mL  
19 da água dos aquários. A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico em  
20 rações de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) promoveu a colonização  
21 do intestino, entretanto, não influenciou o desempenho produtivo e sobrevivência num  
22 sistema de cultivo com desafio sanitário.

23 **Palavras-chave:** alevinos, desafio sanitário, tilápia do Nilo, probiótico, promotor de  
24 crescimento, *Saccharomyces cerevisiae*

25



## Introdução

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24

A tilápia do Nilo se destaca como peixe de potencial para piscicultura em função da sua rusticidade, crescimento rápido e adaptação ao confinamento (Hayashi et al., 1999; MacIntosh & Little, 1995). Entre as espécies mais cultivadas, a tilápia do Nilo é considerada como a de maior resistência à alta temperatura, à baixa concentração de oxigênio dissolvido e à alta concentração de amônia na água (Popma & Phelps, 1998). Podendo ser cultivada tanto em água doce, quanto em água estuarina ou salobra (Meurer et al 2003a), tem baixo custo quando comparada a outras espécies, em relação aos alevinos e alimentação (Lahav & Ra'nam, 1997).

A tilápia do Nilo pode ser cultivada tanto em sistemas intensivos quanto extensivos (Conte, 2002). A sua alimentação pode ser derivada somente do plâncton do ambiente ou da ração artificial, além do consórcio entre estes (Meurer et al., 2002), pois é de baixo nível trófico, tendo vantagem em relação às espécies carnívoras que utilizam grande quantidade de farinha de peixe nas rações (Fitzsimmons, 2000).

O aumento da ocorrência de doenças resulta em significativas perdas na aqüicultura e no seu comércio, afetando o desenvolvimento econômico do setor em muitos países (Gram et al., 1999). No Brasil, com o crescimento da piscicultura intensiva também se observa o aumento da ocorrência de doenças nos sistemas de produção (Costa, 2003). Na aqüicultura, o uso de antibióticos tem apresentado um sucesso limitado na prevenção ou cura de infecções. O uso massivo de antibióticos aumenta a pressão da seleção sobre os microrganismos, promovendo o aumento da resistência bacteriana (Verschuere et al., 2000a).

1           Dentre as alternativas propostas ao uso de antibióticos no controle de doenças, os  
2   probióticos figuram como uma das possíveis alternativas (Nikoskelainen et al., 2001;  
3   Gram et al., 1999; Gildberg et al., 1997). Probióticos podem ser definidos como  
4   microrganismos vivos, suplementados por meio dos alimentos, que afetam  
5   beneficamente o hospedeiro pela melhora em seu balanço intestinal (Fuller, 1989),  
6   melhoram ou previnem uma doença (Mattar et al., 2001) e têm algum efeito benéfico  
7   nos microrganismos presentes no ambiente aquático (Verschuere et al., 2000a). O uso  
8   da levedura como probiótico apresenta efeitos significativos em humanos e animais,  
9   porém, seus efeitos são pouco estudados em organismos aquáticos (Patra & Mohamed,  
10  2003).

11           A utilização da adubação é um manejo bastante utilizado na aquicultura,  
12   principalmente nas fases iniciais do cultivo (Palhares et al., 1998). O esterco suíno *in*  
13   *natura* é um dos adubos bastante utilizados na piscicultura (Menti et al., 2003), com o  
14   objetivo de baratear a atividade. Porém, o fornecimento de esterco *in natura* pode levar  
15   à contaminação do ambiente aquático por microrganismos patogênicos (Muratori et al.,  
16   2001). Portanto, apesar do efeito benéfico do esterco suíno sobre o alimento natural dos  
17   viveiros este pode vir a se tornar um desafio sanitário as tilápias presentes nos tanques.  
18   Pois, de acordo com Abidi (2003) os microrganismos patogênicos são oportunistas e  
19   estão geralmente no ambiente aquático.

20           O objetivo do presente experimento foi avaliar o efeito da inclusão do probiótico  
21   *Saccharomyces cerevisiae* em rações para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis*  
22   *niloticus*), sobre os parâmetros de desempenho, sobrevivência e colonização intestinal,  
23   recebendo esterco suíno *in natura* como desafio sanitário.

24

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

## Material e Métodos

O presente experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - *Campus* de Toledo, de 16 de março a 1º de maio de 2004. Foram utilizados 60 alevinos de tilápia do Nilo, provenientes da Piscicultura Piracema (Maringá-Pr). Os alevinos possuíam cerca de trinta dias de idade, com o peso e comprimento médios de, respectivamente  $0,45 \pm 0,02$  g e  $3,10 \pm 0,14$  cm.

Os alevinos foram distribuídos em um delineamento completamente casualizado com dois tratamentos e seis repetições em 12 aquários de 50 L. Foi considerado como uma unidade experimental um aquário de 50 L contendo cinco alevinos.

Os aquários possuíam aeração por contato, com pedras microporosas ligadas através de mangueiras de silicone a mini-compressores de ar. Diariamente, os aquários foram sifonados, para a retirada das fezes e restos de ração, uma vez durante a manhã (6h00) e outra à tarde (18h00), com a remoção de cerca de 30% da água nos primeiros 30 dias e 40% até final do período experimental.

A água utilizada no experimento era proveniente da rede Municipal de abastecimento, portanto, possuía cloro, o qual foi neutralizado com a adição de tiosulfato de sódio. A temperatura da água foi aferida diariamente pela manhã e à tarde; outros parâmetros como o pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica da água, foram quantificados semanalmente pela manhã, sempre antes da sifonagem.

Diariamente, cerca de 30 mL de fezes de suínos *in natura* foi dissolvido em 600 mL de água destilada e cada aquário recebia 10 mL desta mistura, manejo este feito durante o período da manhã logo após a sifonagem. O fornecimento deste material foi considerado como desafio sanitário. O esterco suíno era proveniente de um lote de

1 suínos em terminação de uma propriedade rural do município. O mesmo era coletado e  
2 estocado em uma geladeira e utilizado por um período de uma semana.

3 Para a confirmação do desafio sanitário imposto à água utilizada nos aquários,  
4 depois desta ser contaminada pelas fezes suínas, bem como o próprio esterco suíno,  
5 foram analisados quanto ao número de coliformes totais, bactérias totais e gêneros  
6 bacterianos, pela metodologia posteriormente descrita.

7 A ração experimental foi formulada para conter 30% de proteína digestível e 3000  
8 kcal/kg de energia digestível. A ração era composta por farelo de soja, milho, óleo de  
9 soja, calcário calcítico, fosfato bicálcico, pré-mistura vitamínico mineral, sal comum,  
10 metionina, lisina e BHT, cujos valores de digestibilidade dos alimentos foram  
11 calculados conforme Meurer et al., (2003b) e Boscolo et al, (2002). Para a fabricação da  
12 ração experimental os alimentos foram moídos em peneira de 0,5 mm, pesados  
13 conforme a formulação e sendo posteriormente misturados. O fornecimento da ração foi  
14 feito na percentagem de 10% do peso vivo dos animais, na forma farelada, o  
15 arraçoamento foi feito numa frequência de três vezes ao dia, às 7h00, 13h00 e 18h00.  
16 Para a correção da percentagem de arraçoamento, os alevinos foram pesados no 17<sup>o</sup>, 29<sup>o</sup>  
17 e 39<sup>o</sup> dia.

18 O presente experimento foi composto de dois tratamentos, um tratamento  
19 testemunha (TT) e o tratamento-teste (TP), ambos os tratamentos utilizaram a mesma  
20 ração experimental base, entretanto, à ração experimental do TP tinha a inclusão de  
21 0,1% de probiótico. O probiótico consistia de um produto contendo dez bilhões de  
22 células vivas/g de *Saccharomyces cerevisiae*, portanto cada quilograma de ração do TP  
23 possuía cerca de um milhão de células vivas. Valores estes que foram confirmados pela  
24 contagem do número de unidades formadoras de colônia (UFC) de *S. cerevisiae* no

1 produto e na mistura final da ração estimado através da contagem em placa, utilizando  
2 meio seletivo para leveduras YGC, conforme a metodologia descrita anteriormente.

3 As análises microbiológicas executadas no presente experimento tiveram como  
4 objetivo a determinação de *S. cerevisiae*, coliformes e bactérias totais. Inicialmente,  
5 uma amostra do material a ser analisado foi pesado e diluído em 2 mL de água destilada  
6 estéril num tubo de ensaio. Após este passo, o tubo contendo o material para análise foi  
7 homogeneizado em vórtex. Do material homogeneizado, foram feitas diluições decimais  
8 em tubos com água destilada estéril, as diluições utilizadas foram,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ .

9 Para a contagem de bactérias totais foi utilizado o meio em ágar padrão de  
10 contagem Agar padrão de contagem (PCA) em placas de Petri, utilizando 1 mL das  
11 soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e pura. Para a contagem de coliformes totais, foi utilizado o  
12 meio ágar violeta bile vermelho neutro (VBR), em placas de Petri, utilizando 1 mL das  
13 soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e puro. Para verificar a presença e efetuar a contagem da *S.*  
14 *cerevisiae*, foi utilizado o meio seletivo *yeast growth chloramphenicol* (YBR), em placas  
15 de Petri, utilizando 1 mL das soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e pura. Após o preparo das  
16 placas de Petri, as mesmas foram colocadas em uma estufa microbiológica, para  
17 incubação a 27 °C por 48 horas.

18 Ao final do período experimental, todos os alevinos de cada unidade experimental  
19 foram contados, pesados e medidos individualmente, para a determinação dos  
20 parâmetros de sobrevivência, peso final médio, comprimento final médio e fator de  
21 condição corporal (obtido através da expressão peso corporal/comprimento corporal<sup>3</sup>  
22 x100).

23 De cada unidade experimental foram escolhidos, aleatoriamente, dois alevinos  
24 que foram insensibilizados em água gelada (cerca de 2 °C), pesados e abatidos por  
25 decapitação. Posteriormente, foram extraídos assepticamente, o fígado e o intestino

1 destes animais. O fígado foi utilizado para análise do índice hepato-somático (IHS),  
2 ((peso do fígado/ peso corporal)x100). As análises dos intestinos foram feitas para a  
3 determinação de *S. cerevisiae*, coliformes totais, bactérias totais e gêneros bacterianos.

4 Depois de calculados os valores de desempenho e sobrevivência, bem como os  
5 parâmetros físico-químicos da água, foram submetidos à análise de variância e as  
6 médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, os valores de *S.*  
7 *cerevisiae*, coliformes totais, bactérias totais e gêneros bacterianos dos peixes e água,  
8 foram comparados pelo teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade, ambos pelo SAEG -  
9 Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1997), quando necessário.

10

11

## 12 **Resultados e Discussão**

13

14 A média dos resultados dos parâmetros físico-químicos da água dos aquários das  
15 unidades experimentais, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica e pH,  
16 foram respectivamente de  $25,1 \pm 1,6$  °C,  $5,1 \pm 0,9$  mg/L,  $108,7 \pm 7,4$  µSm/cm e  $7,5 \pm$   
17  $0,4$ . A temperatura média da água dos aquários não apresentou diferenças entre os  
18 tratamentos ( $p > 0,05$ ), porém permaneceu abaixo da temperatura recomendada para o  
19 bom desempenho da espécie (Kubitza, 2000). Os valores dos demais parâmetros físico-  
20 químicos da água foram semelhantes entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), permanecendo  
21 dentro dos valores recomendados para o bom desempenho do cultivo desta espécie  
22 (Popma & Phelps, 1998).

23

24 O número médio das unidades formadoras de colônia (UFC) de bactérias e de  
25 coliformes totais da água dos aquários experimentais, bem como dos intestinos dos  
alevinos tilápias do Nilo submetidas ao tratamento com e sem probiótico encontram-se

1 na Tabela 05, parâmetros estes que não sofreram a influência dos tratamentos ( $p < 0,05$ ).  
 2 O número médio de UFC de coliformes totais encontrados no esterco suíno, utilizado  
 3 para o desafio sanitário foi de  $1,2 \times 10^6$  ( $\pm 5,7 \times 10^2$ ). O número de UFC de levedura (*S.*  
 4 *cerevisiae*) no produto e na mistura final da ração confirmou os valores de garantia do  
 5 produto ( $10^{10}$  UFC/Kg probiótico), bem como da quantidade desta adicionado á ração  
 6 ( $10^5$  UFC/Kg ração). O número de UFC de *S. cerevisiae* encontrado por g de intestino  
 7 dos alevinos do TP foi de  $5,8 \times 10^3$  ( $\pm 4,3 \times 10^2$ ), no TT nenhuma UFC de *S. cerevisiae* foi  
 8 identificada.

9

10 Tabela 05. Número médio das contagens de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de  
 11 *S. cerevisiae*, bactérias e coliformes totais da água dos aquários  
 12 experimentais e do intestino de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis*  
 13 *niloticus*) submetidos a rações com e sem probiótico

14 Table 05. Average number of the countings of Units of Colony Formation (UFC) of *S. cerevisiae*,  
 15 bacteria and total coliformes of the water of the experimental aquariums and the intestine of  
 16 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings submitted the rations with and without  
 17 probiotic

18

Microrganismos <i>Microrganisms</i>	TP <sup>1</sup>	TT <sup>2</sup>	CV (%)
Coliformes totais (UFC/mL) <i>Total Coliforms (UFC/mL)</i>	$4,25 \times 10^2$	$7,06 \times 10^2$	101,22
Bactérias totais (UFC/mL) <i>Total Bacteria (UFC/mL)</i>	$5,30 \times 10^4$	$4,67 \times 10^4$	147,93
Coliformes totais (UFC/g intestino) <i>Total Coliforms (UFC/g of intestine)</i>	45,82	56,57	159,34
Bactérias totais (UFC/g intestino) <i>Total Bacteria (UFC/g of intestine)</i>	$3,75 \times 10^4$	$7,27 \times 10^4$	165,73

19

20

21

<sup>1</sup>TP tratamento com probiótico (<sup>1</sup>Treatment with probiotic). <sup>2</sup>TT tratamento sem probiótico (<sup>2</sup>Treatment without probiotic).

22 Os resultados médios finais da biomassa, peso individual, comprimento  
 23 individual, conversão alimentar, fator de condição, índice hepato-somático e  
 24 sobrevivência dos alevinos das unidades experimentais, estão apresentados na Tabela  
 25 06. Os valores médios dos parâmetros estudados não diferiram entre os tratamentos  
 26 ( $p > 0,05$ ).

27

1 Tabela 06. Valores dos parâmetros mensurados e calculados dos alevinos de tilápia do  
 2 Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a rações com e sem probiótico  
 3 Table 06. Values of the measurements and calculated parameters Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)  
 4 submitted the rations with and without probiótico, during reversion phase  
 5

Parâmetro <i>Parameter</i>	TP <sup>1</sup>	TT <sup>2</sup>	CV (%)
Peso (g) <i>Weight</i>	3,07	3,19	27,36
Comprimento (cm) <i>Lenght</i>	5,83	5,84	7,64
Conversão alimentar <i>Conversion ratio</i>	3,16	2,83	16,44
Fator de condição corporal <i>Body condiction factor</i>	1,48	1,47	6,44
Sobrevivência (%) <i>Survival</i>	72,00	76,00	20,10
Índice hepato-somático <i>Hepatic-somatic index</i>	2,45	2,03	19,74

6 <sup>1</sup>TP tratamento com probiótico (<sup>1</sup>Treatment with probiotic). <sup>2</sup>TT  
 7 tratamento sem probiótico (<sup>2</sup>Treatment without probiotic).  
 8

9 Em relação ao desempenho e sobrevivência do presente experimento, estes  
 10 valores estão de acordo com os dados apresentados por Meurer et al. (2004) utilizando a  
 11 inclusão de *S.cerevisiae* em rações para a tilápia do Nilo durante a fase de reversão  
 12 sexual. Makridis et al., (2000) também não verificaram o efeito do fornecimento de duas  
 13 cepas de bactérias (4:44 e PB52) sobre os parâmetros de desempenho e sobrevivência  
 14 durante a larvicultura do turbot (*Scophthalmus maximus*). Lara-Flores et al. (2003),  
 15 fizeram a inclusão de o *S. cerevisiae* em rações de alevinos de tilápia do Nilo  
 16 verificando um efeito positivo sobre o desempenho e a sobrevivência, discordando do  
 17 presente experimento.

18 Carnevali et al., (2004) verificaram um efeito positivo da adição de probióticos  
 19 (*L. plantarum* e *L. fructivorans*) sobre a sobrevivência de larvas do sea bream (*Sparus*  
 20 *aurata*). Gram et al. (1999) verificaram que a sobrevivência de juvenis de truta arco-íris,  
 21 recebendo o probiótico *Pseudomonas fluorescens* AH2 aumentou, quando submetidos à  
 22 infecção com *Vibrio anguillarum*. Gildberg et al. (1997), demonstram que a adição de  
 23 *Carnobacterium divergens* em rações para larvas de Bacalhau do Atlântico (*G.*

1 *morhua*), expostas ao patógeno *Vibrio anguillarum* apresentaram uma mortalidade  
2 significativamente menor que as que não receberam o probiótico, resultados estes que  
3 discordam do presente experimento.

4 A colonização do intestino pela *S. cerevisiae* do presente experimento estão de  
5 acordo com Costa et al. (2004), os quais demonstraram que a inclusão de  
6 *Saccharomyces cerevisiae* proporcionou a colonização do intestino da tilápia do Nilo  
7 durante a fase de reversão sexual. Também estando de acordo com Carnevali et al.  
8 (2004), que verificaram a colonização do intestino de larvas de sea bream através do  
9 fornecimento de *L. fructivorans* e *L. plantarum*. Gildberg et al. (1997), verificaram a  
10 colonização do intestino do Bacalhau do Atlântico por *C. divergens*, confirmando os  
11 resultados do presente experimento. Andlid et al. (1995), também verificou que algumas  
12 cepas de levedura colonizaram o intestino do turbot e da truta arco-íris em valores  
13 superiores à  $4 \times 10^4$  UFC, sem causar prejuízo ao seu desempenho.

14 O número de UFC de bactérias e coliformes totais do presente experimento esta  
15 de acordo com Costa et al. (2004), que não verificaram efeito significativo do  
16 fornecimento de *S. cerevisiae* sobre o número de UFC de bactérias totais em intestinos  
17 da tilápia do Nilo durante a fase de reversão sexual. Carnevali et al., (2004) também  
18 apresentaram um efeito que está de acordo com o presente experimento, que nos  
19 primeiros 35 dias de cultivo de larvas de sea bream, não houve efeito da inclusão de  
20 *Lactobacillus* sp sobre o número de bactérias intestinais.

21 O efeito do probiótico pode estar relacionado ao tempo de utilização, Carnevali et  
22 al., (2004) verificaram que durante os primeiros 35 dias da larvicultura não houve efeito  
23 do probiótico (*Lactobacillus* sp), apresentando efeito significativo depois do segundo  
24 mês. Lara-Flores et al. (2003) obtiveram um efeito significativo da adição do probiótico  
25 (*S. cerevisiae*) sobre o desempenho de alevinos de tilápia do Nilo expostos a fatores

1 estressantes, a baixa percentagem de proteína na ração e uma maior densidade  
2 populacional, após um período experimental de nove semanas, entretanto, o período  
3 experimental do presente experimento foi de apenas seis semanas e meia.

4 De acordo com os valores dos coliformes totais encontrados na água dos aquários  
5 experimentais, os quais estavam acima do nível máximo estabelecido pela resolução do  
6 CONAMA (1986) para água destinada à aquicultura, a inclusão do esterco suíno foi de  
7 fato um desafio sanitário imposto aos alevinos. Portanto, de acordo com Menti et al.  
8 (2003), que afirmaram que a adição de esterco de suíno pode comprometer o aspecto  
9 sanitário da água em função da possibilidade da presença de microrganismos  
10 patogênicos.

11 Animais mantidos em locais com boas condições de manejo, dificilmente  
12 apresentarão um efeito significativo no seu desempenho com a inclusão probióticos em  
13 suas rações (Lima et al., 2003), fato comprovado por Meurer et al. (2004). Nestas  
14 condições a possibilidade de contato destes animais com microrganismos patogênicos é  
15 menor (Loddi et al., 2000; Zuanon et al., 1998). Porém, a adição do probiótico *S.*  
16 *cerevisiae* à ração da tilápia do Nilo não foi hábil em melhorar nem o desempenho,  
17 sobrevivência e o número de microrganismos presentes na água.

18

1

2

## Conclusões

3

4

5

6

7

8

A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico em rações de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) promoveu a colonização do intestino, entretanto, não influenciou o desempenho produtivo e sobrevivência num sistema de cultivo com desafio sanitário.

1

2

**Literatura Citada**

3

- 4 ABIDI, R. Use of probiotics in larval rearing of new candidate species. **Aquaculture**  
5 **Asia**, v.8, n.2, p.15-16, 2003.
- 6 ANDLID, T.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; GUSTAFSSON, L. Yeast colonizing the  
7 intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophthalmus maximus*).  
8 **Microbial Ecology**, v.30, p.321-334, 1995.
- 9 BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Digestibilidade Aparente da Energia  
10 e Nutrientes de Alimentos Convencionais e Alternativos para a Tilápia do Nilo  
11 (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.13, n.2, p.539-545,  
12 2002.
- 13 CARNEVALI, O.; ZAMPONI, M.C.; SULPIZIO, R.; et al. Administration of probiotic  
14 strain to improve sea bream wellness during development. **Aquaculture International**,  
15 v.12, p.377-386, 2004.
- 16 CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. Resolução nº 20,  
17 **Diário Oficial da União**,30/07/1986.
- 18 CONTE, L. **Produtividade e economicidade da tilapicultura em gaiolas na região**  
19 **Sudoeste do Estado de São Paulo: Estudos de casos**. Piracicaba, SP: USP, 2002. 59p.  
20 Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração Ciência Animal e  
21 Pastagens) – Universidade de São Paulo, 2002.
- 22 COSTA, A.B. **Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de**  
23 **peixes de água doce e sua atividade patogênica**. Piracicaba, SP: USP, 2003. 54p. Tese  
24 (Doutorado em Agronomia – Área de Concentração Ciência Animal e Pastagens) –  
25 Universidade de São Paulo, 2003.
- 26 COSTA, M.M.; MEURER, F.; HAYASHI, C.; et al. Microflora intestinal de tilápia do  
27 Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração contendo probiótico  
28 (*Saccharomyces cerevisiae*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA  
29 DE ZOOTECNIA, 41., 2004. Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade  
30 Brasileira de Zootecnia, 2004, p.019.
- 31 FITZSIMMONS, K. Tilapia: most important aquaculture species of the 21<sup>st</sup> century. In:  
32 PROCEEDINGS FROM THE FIFTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON  
33 TILAPIA AQUACULTURE, 2000, Rio de Janeiro, **Anais...** Rio de Janeiro: ISTA,  
34 2000. p. 3-8.
- 35 FULLER, R. A review: probiotic in man and animals. **Journal Applied**  
36 **Environmental Microbiology**, v.63, p.1034-1039, 1989.
- 37 GILDBERG, A.; MIKKELSEN, H.; SANDAKER, E. et al. Probiotic effect of lactic acid  
38 bacteria in the feed on growth and survival of fry of Bacalhau do Atlântico (*Gadus*  
39 *morhua*). **Hydrobiologia**, v.352, p.279-285, 1997.
- 40 GRAM, L.; MELCHIORSEN, J.; SPANGGARD, B.; et al. Inhibition of *Vibrio*  
41 *anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish.  
42 **Applies and Environmental Microbiology**, v.65, n.3, p.969-9732, 1999.

- 1 HAYASHI, C., BOSCOLO, W.R., SOARES, C.M. et al. Uso de diferentes graus de  
2 moagem dos ingredientes em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na  
3 fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, v.21, n.3 p.733-737, 1999.
- 4 KUBITZA, F. **Tilápia – tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí:  
5 Divisão de Biblioteca e Documentação, 2000, 289p.
- 6 LAHAV, E.; RA'NAN, Z. Salinity tolerance of genetically produced tilapia  
7 (*Oreochromis*) hybrids. **Bamidgeh**, v.49, n.3, p.160-165. 1997.
- 8 LARA-FLORES, M.; OLVEA-NOVOA, M.A.; GUZMAN-MENDEZ, B.E.; et al. Use  
9 of bactéria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast  
10 *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).  
11 **Aquaculture**, v. 216, n.1-4, p.193-201, 2003.
- 12 LIMA, A.C.F.; PIZAURO JÚNIOR, J.M.; MACARI, M.; et al. Efeito do uso de  
13 probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte.  
14 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.200-207, 2003.
- 15 LODDI, M.M.; GONZALES, E.; TAKITA, T.S.; et al. Uso de probiótico sobre o  
16 desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista**  
17 **Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1124-1131, 2000.
- 18 MACINTOSCH, D.J.; LITTLE, D.C. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In:  
19 BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. **Broodstock management and egg and larval**  
20 **quality**. London: Blackwell Science, 1995, p.277-320.
- 21 MAKRIDIS, P.; FJELLHEIM, A.J.; SKJERMO, J. et al. Colonization of the gut in first  
22 feeding turbot by bacterial strains added to the water or biencapsulated in rotifers.  
23 **Aquaculture International**, v.6, p.367-380, 2000.
- 24 MATTAR, A.F.; DRONGOWSKI, R.A.; CORAN, A.G. et al. Effect of probiotics on  
25 enterocyte bacterial translocation in vitro. **Pediatric Surgery Int**, v.17, p.265-268,  
26 2001.
- 27 MENTI, M.M.; SIGNOR, A.; FRECCIA, A.; et al. Investigação de *Salmonella* em  
28 diferentes sistemas de cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In:  
29 CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 13., 2003, Porto  
30 Seguro. **Anais...** Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Engenharia de Pesca, 2003,  
31 p.1104-1109.
- 32 MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. Digestibilidade aparente de alguns  
33 alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira**  
34 **de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1801-1809, 2003b.
- 35 MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. et al. Lipídeos na alimentação de  
36 alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira**  
37 **de Zootecnia**, v.31, n.2, p.566-573, 2002.
- 38 MEURER, F.; HAYASHI, C.; COSTA, M.M.; et al. Uso da *Saccharomyces cerevisiae*  
39 como probiótico para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de  
40 reversão sexual. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE  
41 ZOOTECNIA, 41., 2004. Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira  
42 de Zootecnia, 2004, aqua 027.
- 43 MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. Influencia do processamento da ração  
44 no desempenho e sobrevivência da tilápia do Nilo durante a reversão sexual. **Revista**  
45 **Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.2, p.262-267, 2003a.

- 1 MURATORI, M.C.S.; MARTINS, N.E.; PEIXOTO, M.T.D.; et al. Mortalidade por  
2 “septicemia dos peixes tropicais” em tilápias criadas em consorciação com suínos.  
3 **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.6, p.658-662, 2001.
- 4 NIKOSKELANEN, S.; SALMINEN, S.; BYLUND, G. et al. Characterization of the  
5 properties of human and dairy-derived probiotics for prevention of infectious diseases in  
6 fish. **Applies and Environmental Microbiology**, v.67, n.6, p.2430-2435, 2001.
- 7 PALHARES, J.C.P.; LUCAS JÚNIOR, J.; SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Efeito da  
8 aplicação de estrume de suínos, fresco e fermentado em biodigestores, na qualidade da  
9 água para a aqüicultura. **Energia na Aqüicultura**, v.13, n.4, p.32-39, 1998.
- 10 PATRA, S.K.; MOHAMED, K.S. Enrichment of *Artemia nauplii* with the probiotic  
11 yeast *Saccharomyces boulardii* and its resistance against a pathogenic *Vibrio*.  
12 **Aquaculture International**, v.11, p.505-514, 2003.
- 13 POPMA, T. J.; PHELPS, R. P. Status report to commercial tilápia producers on  
14 monosex fingerling productions techniques. In: SIMPÓSIO SUL AMERICANO DE  
15 AQUICULTURA, 1, 1998, Recife. **Anais...** Florianópolis: SIMBRAQ, 1998. p.127.
- 16 POPMA, T.J., PHELPS, R.P. Status report to commercial tilápia producers on monosex  
17 fingerling productions techniques. In: SIMPÓSIO SUL AMERICANO DE  
18 AQUICULTURA, 1, 1998, Recife. **Anais...** Florianópolis: SIMBRAQ, 1998. p.127.
- 19 UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG Sistema para análises**  
20 **estatísticas e genéticas**. Versão 7.1. Viçosa, MG. 150p. (Manual do usuário).
- 21 VERSCHUERE, L.; HEANG, H.; CRIEL, G. et al. Selected bacterial strains protect  
22 *Artemia* spp. from the pathogenic effects of *Vibrio proteolyticus* CW8T2. **Applied and**  
23 **Environmental Microbiology**, v.66, n.3, p.1139-1146, 2000a.
- 24 VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P; et al. Probiotic bacteria as  
25 biological control agents in aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology**  
26 **Reviews**, v.64., v.4, p.655-671, 2000b.
- 27 ZUANON, J.A.S.; FONSECA, J.B.; ROSTAGNO, H.S.; et al. Efeito de promotores de  
28 crescimento sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**,  
29 v.27, n.5, p.999-1005, 1998.
- 30
- 31

## VI. CONCLUSÕES GERAIS

A inclusão de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) em rações para as fases de reversão sexual e alevinagem da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), não exerceu nenhum efeito positivo sobre o desempenho e a sobrevivência destas em situações de cultivo experimental sem desafio sanitário e com o fornecimento de esterco suíno *in natura* como desafio sanitário.

Porém promoveram, em todos os casos a colonização do trato digestório dos alevinos, levando também a uma modificação na sua microbiota no cultivo experimental sem desafio sanitário. Quanto à influência do probiótico sobre o número de microrganismos presentes, não se verificou resultado significativo no primeiro experimento, porém no segundo experimento, houve diferença significativa sobre os valores de coliformes fecais no intestino e no ambiente aquático, sendo menores no tratamento com probiótico.

Experimentos englobando períodos mais longos, fases subseqüentes de cultivo ou exposições a patógenos específicos, bem como outros fatores de desafio sanitário ou estressantes devem ser conduzidos para se verificar a eficiência da levedura viva na tilapicultura.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)