

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

**PRODUÇÃO DE TILÁPIA-DO-NILO EM TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS COM
ADITIVO SIMBIÓTICO**

Laice Menes Laice

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

**PRODUÇÃO DE TILÁPIA-DO-NILO EM TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS COM
ADITIVO SIMBIÓTICO**

NIL TILAPIA PRODUCTION IN BIOFLOCK TECHNOLOGY WITH SYMBIOTIC
ADDITIVE

Laice Menes Laice

Orientador: Prof. Dr^o. Jayme Aparecido Povh

Tese apresentada à Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul,
como requisito à obtenção do título
de Doutor em Ciência Animal. Área
de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL
2019

Certificado de aprovação

Laice Menes Laice

Produção de Tilápia-do-Nilo em Tecnologia de Bioflocos com Aditivo Simbiótico

Nile Tilapia production in biofloc technology with symbiotic additive

Tese apresentada à
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de Doutor em Ciência Animal.

Aprovado(a) em: 25-10-2019

BANCA EXAMINADORA:



Dr. Jayme Aparecido Povh
Orientador (UFMS)



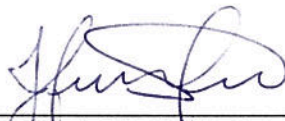
Dra. Milena Wolff Ferreira
(UCDB)



Dra. Alda Izabel de Souza
(UFMS)



Dr. Charles Kiefer
(UFMS)



Dra. Karina Márcia Ribeiro de Souza Nascimento
(UFMS)

“Estas coisas vos têm dito para que
tenhais paz em mim, no mundo passareis
por aflições, mas tende bom animo; eu
venci o mundo” (**João 16:33**).

Ao Glorioso Deus das alturas, O SENHOR DOS EXÉRCITOS por me conceber o direito à vida e zelar por ela.

A sigilosa mãe Micaela Marcelino Antônio, por cada segundo de vida dedicado à minha educação e as dificuldades que passou para trazer aos seus filhos o bem-estar.

Aos príncipes Laice Jr. e Aryuth da Achinel, que um dia possam compreender ausência do papai e que tudo que faço é pensando em um dia condicionar-vos o melhor.

E a minha esposa Achinel Laice, pela incrível paciência, por todos os sonos perdidos, cada segundo dedicada a educação da nossa filha as dificuldades que enfrentastes na minha ausência.

Dedico!

Agradecimento

Ao Rei da Glória, O Senhor Jesus Cristo, governador do meu coração e guia dos meus pés.

À minha amada esposa Achinel Laice, pela confiança, muita paciência e tamanha coração cheio de muito amor.

À minha querida mãe, Micaela Marcelino Antônio, pelo amor incondicional, apoio e dedicação para comigo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jayme Aparecido Povh, pelo apoio moral e material, pela orientação, confiança, estímulo, críticas, auxílio, paciência, encorajamento demonstrado durante a realização deste trabalho e todo tempo que estive no Brasil aí vai a minha expressiva gratidão.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Ruy Alberto Caetano Corrêa Filho, pela coorientação, amizade, exemplo de profissional, por todos os ensinamentos, enfim, nada que eu diga expressará minha tamanha gratidão.

À Arlene Sobrinho Ventura, pelo apoio, sugestões, auxílios e todas contribuições proporcionadas para o desenvolvimento desse trabalho, vai a minha imensurável gratidão e tamanha admiração profissional.

Ao pessoal do LAPEX- Laboratório de Patologia Experimental, em especial o Prof. Dr. Carlos Eurico, a Karine Nathiele Nogueira Farias e André Luís do Nascimento Silva pelas sugestões, auxílios e todas contribuições proporcionadas para o desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus amigos e colegas AquiMS: Letícia Emiliani, Luana, André Nunes, e Guilherme Sarphim e Ana Silva, Gabrielly Cristina, Phillipe Thiago Leite, Thiago Martins, e a todo pessoal que direta ou indiretamente me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

Aos funcionários Eliezer e Jacaré da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS, Unidade de Campo Grande, pelo apoio no setor de piscicultura, compartilhando seus conhecimentos e experiências.

Ao Instituto Superior Politécnico de Manica, pela ótima formação.

À Universidade Federal de Mato grosso do Sul- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), pela oportunidade concebida e pela formação de pesquisador.

Ao Ministério da Ciência e Tecnologia, Ensino Superior e Técnico Profissional de Moçambique (MCTESTP), pelo financiamento da bolsa.

E a todos aqueles que, de forma direta ou indireta, contribuíram para meu êxito pessoal e profissional.

Muito Obrigado!

RESUMO

LAICE, L.M. PRODUÇÃO DE TILÁPIA-DO-NILO EM TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS COM ADITIVO SIMBIÓTICO. 2019. Tese de Doutorado- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2019.

A tecnologia de bioflocos - BFT (Biofloc Technology System) está entre as novas tecnologias de destaque na produção de organismos aquáticos. O princípio da BFT está na transformação de nutrientes disponíveis na água, alguns bastante tóxicos como a amônia, em microrganismos aderidos aos flocos, mediante a adição de fontes de carbono no sistema. Neste contexto, a adição do aditivo simbiótico na água pode proporcionar melhora não apenas nos peixes, mas no sistema com o favorecimento de microrganismos presentes na água. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho, parâmetros hematológicos e morfometria intestinal nas fases de pós-larvas até alevinos e na fase de peixes jovens de tilápia-do-Nilo produzida em tecnologia de bioflocos (BFT) com a utilização de simbiótico na água. Foram realizados dois experimentos, sendo: Experimento I: 800 pós-larvas com peso de $0,085 \pm 0,002$ g as quais foram alocadas em oito caixas plásticas de 12 litros (100 pós-larvas/caixa); Experimento II: 80 peixes jovens com peso entre 30 g e 35 g foram alocados em oito tanques de 100 litros (10 peixes/caixa). Em ambos os experimentos os peixes foram produzidos em tecnologia de bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico, sendo o simbiótico adicionado diretamente na água semanalmente na dosagem de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ (recomendação comercial do produto). Em ambos os experimentos foi utilizado delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos (BFT com simbiótico e BFT sem simbiótico) e quatro repetições, totalizando oito unidades experimentais. Peso final, comprimento total, ganho em peso e taxa de crescimento específico na fase de pós larvas até alevinos foram maiores ($P < 0,05$) para os peixes produzidos no BFT com simbiótico ($2,66 \pm 0,08$ g; $5,09 \pm 0,16$ cm; $2,57 \pm 0,08$ g; $2,57 \pm 0,08\%$) em relação aos peixes produzidos em BFT sem simbiótico ($2,38 \pm 0,01$ g; $4,83 \pm 0,05$ cm; $2,30 \pm 0,01$ g; $8,32 \pm 0,04\%$). Para a mesma fase de criação, a espessura da camada muscular interna e a densidade de células caliciformes do intestino foram maiores ($P < 0,05$) nos peixes produzidos no BFT com simbiótico, e a largura da vilosidade do intestino foi maior nos peixes produzidos no BFT sem simbiótico. No experimento II, o peso final, ganho em peso e taxa de crescimento específico foram maiores ($P < 0,05$) e a conversão alimentar menor ($P < 0,05$) nos peixes jovens produzidos em BFT com simbiótico ($77,28 \pm 0,61$; $46,79 \pm 0,64$; $2,33 \pm 0,03$ e $0,94 \pm 0,01$), em relação aos peixes produzidos em BFT sem simbiótico ($73,31 \pm 0,73$; $42,54 \pm 0,77$; $2,17 \pm 0,04$ e $1,02 \pm 0,01$) e houve variação nas características hematológicas ($P < 0,05$) nos peixes produzidos em BFT com simbiótico, porém sem diferenças morfométricas no intestino. Concluiu-se que a utilização de simbiótico no BFT melhora o desempenho e promove algumas alterações na morfometria e densidade celular do intestino da tilápia-do-Nilo na fase de pós-larva até alevino; e que a inclusão de simbiótico em BFT melhora o desempenho e os parâmetros hematológicos em peixes jovens de tilápia-do-Nilo.

- **Palavras-chave:** aquicultura, *Oreochromis niloticus*, qualidade de água na piscicultura, sistema de produção aquícola.

ABSTRACT

LAICE, L.M. NIL TILAPIA PRODUCTION IN BIOFLOCK TECHNOLOGY WITH SYMBIOTIC ADDITIVE. 2019. Tese de Doutorado- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2019.

Biofloc Technology - BFT (Biofloc Technology System) is among the leading new technologies in the production of aquatic organisms. The principle of BFT is in the transformation of nutrients available in water, some quite toxic as ammonia, into microorganisms attached to the flakes by the addition of carbon sources in the system. In this context, the addition of symbiotic additive in water can provide improvement not only in fish but in the system with the favor of microorganisms present in water. The objective of this study was to evaluate the performance, hematological parameters and intestinal morphometry in the post larvae to fingerling phases and in the phase of young Nile tilapia fish produced in biofloc technology (BFT) using symbiotic in water. Two experiments were carried out: Experiment I: 800 posts larvae weighing 0.085 ± 0.002 g which were allocated in eight 12 liter plastic boxes (100 post larvae / box); Experiment II: 80 young fish weighing between 30 g and 35 g were allocated to eight 100-liter tanks (10 fish / box). In both experiments the fish were produced in symbiotic and non-symbiotic biofloc technology (BFT), and the symbiotic was added directly to the water weekly at a dosage of 0.2 mg L⁻¹ (commercial recommendation of the product). In both experiments we used a completely randomized design with two treatments (BFT with symbiotic and BFT without symbiotic) and four replications, totaling eight experimental units. Final weight, total length, weight gain and specific growth rate in the post larvae to fingerling phase were higher ($P < 0.05$) for fish produced in symbiotic BFT (2.66 ± 0.08 g; 5.09 ± 0.16 cm; 2.57 ± 0.08 g; $2.57 \pm 0.08\%$) for fish produced in BFT without symbiotic (2.38 ± 0.01 g; 4.83 ± 0.05 cm; 2.30 ± 0.01 g; $8.32 \pm 0.04\%$). For the same rearing phase, the thickness of the inner muscle layer and the goblet cell density of the gut were higher ($P < 0.05$) in the fish produced in symbiotic BFT, and the gut villi width was greater in the fish produced in BFT without symbiotic. In Experiment II, final weight, weight gain and specific growth rate were higher ($P < 0.05$) and lower feed conversion ($P < 0.05$) in young fish produced in symbiotic BFT (77.28 ± 0.61 , 46.79 ± 0.64 , 2.33 ± 0.03 and 0.94 ± 0.01) in relation to fish produced in BFT without symbiotic (73.31 ± 0.73 ; 42.54 ± 0.77 , 2.17 ± 0.04 and 1.02 ± 0.01) and there was variation in hematological characteristics ($P < 0.05$) in fish produced in BFT with symbiotic, but without morphometric differences in the intestine. It was concluded that the use of symbiotic in BFT improves performance and promotes some alterations in the morphology and cell density of the Nile tilapia intestine in the post larvae to fingerling phase; and the inclusion of symbiotic in BFT improves performance and haematological parameters in young Nile tilapia fish.

- **Keywords:** aquaculture, *Oreochromis niloticus*, aquaculture water quality, aquaculture production system.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional da ração e composição de simbiótico fornecidas na fase de pós-larvas até alevinos de tilápia-do-Nilo em BFT durante 40 dias de produção.....	32
Tabela 2. Valores médios, desvio padrão (DP), máximos e mínimos de variáveis de qualidade de água durante 40 dias na fase de pós-larvas até alevinos de tilápia-do-Nilo em BFT com simbiótico e sem simbiótico.....	34
Tabela 3. Desempenho da fase de pós-larvas até alevinos de tilápia-do-Nilo produzida durante 40 dias em tecnologia bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico.....	38
Tabela 4. Morfometria do intestino de tilápia-do-Nilo produzidos durante 40 dias da fase de pós-larvas até alevinos em tecnologia bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico.....	38
Tabela 5. Morfometria da vilosidade do intestino das pós-larvas de tilápia-do-Nilo no início do experimento e após 40 dias de produção em tecnologia bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico.....	39
Tabela 6. Densidade celular do intestino de tilápia-do-Nilo produzidos durante 40 dias da fase de pós-larvas até alevinos em tecnologia bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico.....	39
Tabela 1. Composição nutricional da ração e composição do simbiótico fornecidas aos juvenis de tilápia-do-Nilo em BFT durante 40 dias de produção.....	49
Tabela 2. Valores médios, desvio padrão (DP), máximos e mínimos de variáveis de qualidade de água durante 40 dias de produção de juvenis de tilápia-do-Nilo em BFT com simbiótico e sem simbiótico.....	50
Tabela 3. Desempenho de tilápia-do-Nilo produzida durante 40 dias em BFT com simbiótico e sem simbiótico.....	55
Tabela 4. Características hematológicas de tilápia-do-Nilo após 40 dias de produção em BFT com simbiótico e sem simbiótico.....	56
Tabela 5. Morfometria do intestino de tilápia-do-Nilo após 40 dias de produção em BFT com simbiótico e sem simbiótico.....	57
Tabela 6. Morfometria da vilosidade do intestino de tilápia-do-Nilo após 40 dias de produção em BFT com simbiótico e sem simbiótico.....	57
Tabela 7. Densidade celular do intestino de tilápia-do-Nilo após 40 dias de produção em BFT com simbiótico e sem simbiótico.....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Produção de espécies de peixes em 2017 no Brasil.....	12
Figura 3. Exemplar da Tilápia-de-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	13
Figura 4. Filamentos branquiais e os rastros branquiais. (a) as tilápias, espécies onívoras; (b) bagres espécies carnívoras.....	14
Figura 5. Imagem de bioflocos com destaque de rotíferos.....	16
Figura 1. Secções histológicas do intestino alevinos de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) produzidas em tecnologia bioflocos (BFT). Imagem A - As retas indicam as medidas lineares do primeiro diâmetro (D₁) e do segundo primeiro diâmetro (D₁). Imagem B - Corte transversal do intestino com respectivas camadas: Camada muscular externa (ME); camada muscular interna (MI); camada submucosa (SM) e camada mucosa (M). (2,5x). Imagem C - As retas indicam as medidas lineares da altura da vilosidade (Av.) e largura da vilosidade (Lv).....	35
Figura 2. Secções histológicas do intestino dos alevinos tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) produzidos em tecnologia bioflocos (BFT). A imagem A indica a área da vilosidade (Av.). Na imagem B , as setas mostram as células enterócitos presentes no intestino. Os granulocíticas estão representados na imagem C (seta). Na imagem D , as setas indicam as células caliciformes presentes no intestino.....	36
Figura 3 e 4. Flutuações de compostos nitrogenados (TAN, nitrito e nitrato), e sólidos sedimentáveis durante 40 dias na fase de pós-larvas até alevino de tilápia-do-Nilo em tecnologia de bioflocos (BFT) com e sem simbiótico.....	37
Figura 1. Secções histológicas do intestino de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) produzidas em tecnologia bioflocos (BFT). Imagem A - As retas indicam as medidas lineares do primeiro diâmetro (D₁) e do segundo primeiro diâmetro (D₁). Imagem B - Corte transversal do intestino com respectivas camadas: Camada muscular externa (ME); camada muscular interna (MI); camada submucosa (SM) e camada mucosa (M). (2,5x). Imagem C - As retas indicam as medidas lineares da altura da vilosidade (Av.) e largura da vilosidade (Lv).....	52
Figura 2. Secções histológicas do intestino de Juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) produzidos em tecnologia bioflocos (BFT). Na imagem A , as setas mostram as células enterócitos presentes no intestino. Os granulocíticas estão representados na imagem B (seta). Na imagem C , as setas indicam as células caliciformes presentes no intestino.....	53
Figura 3. Flutuações de compostos nitrogenados (TAN, nitrito e nitrato), durante 40 dias de produção de juvenis de tilápia-do-Nilo em tecnologia de bioflocos (BFT) com e sem simbiótico..	54
Figura 4. Flutuações de sólidos sedimentáveis, durante 40 dias de produção de juvenis de tilápia-do-Nilo em tecnologia de bioflocos (BFT) com e sem simbiótico.....	55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1 Produção aquícola.....	11
1.4 Tecnologia de bioflocos.....	15
1.5 Aditivo simbiótico	19
REFERÊNCIAS	24
DESEMPENHO E MORFOMETRIA DO INTESTINO DE ALEVINOS DE TILÁPIA-DO-NILO PRODUZIDOS EM BFT COM SIMBIÓTICO	31
Introdução.....	32
Material e Métodos.....	33
Resultados.....	38
Discussão	40
Conclusão	43
Agradecimentos	43
Referências	43
SIMBIÓTICO EM TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS (BFT) MELHORA O DESEMPENHO E AS CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DE JUVENIS DE TILÁPIA-DO-NILO	47
Introdução.....	48
Material e Métodos.....	49
Resultados.....	55
Discussão	59
Conclusão	63
Agradecimentos	63
Referências	63

1. INTRODUÇÃO

1.1 Produção aquícola

Os dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura – FAO (2018) demonstram que a produção de pescado (extrativismo e aquicultura) mundial tem apresentado aumento contínuo nos últimos anos, principalmente devido à aquicultura. Estes dados demonstram que no ano de 2016 a produção mundial de pescado atingiu cerca de 171 milhões de toneladas, em que a aquicultura representou 80 milhões de toneladas (47% da produção total), com expectativa de que em 2030 a aquicultura contribua com 60% da produção mundial de pescado.

Os dados da FAO (2018) demonstram que desde a década de 60 que tem ocorrido aumento anual médio do consumo mundial de peixe (3,2%), que inclusive excedeu o crescimento populacional (1,6%) e o consumo de carnes de outras espécies juntas (2,8%). Estes dados estatísticos mostram que o consumo *per capita* de peixe aumentou de 18,5 kg em 2011 para 20,3 kg em 2016. Essa demanda por pescado tem sofrido um significativo incremento nas últimas décadas, principalmente em função do crescimento populacional e da busca dos consumidores por alimentos mais saudáveis.

Dentre os países com maior potencial para a aquicultura, o Brasil tem papel de destaque, por sua disponibilidade hídrica, clima favorável, disponibilidade de grão para produção de ração e ocorrência natural de espécies aquáticas que compatibilizam interesse zootécnico e mercadológico. Contudo, a produção aquícola nacional ainda apresenta números incipientes se comparada a dos maiores produtores mundiais, como a China e Índia, com maior importância na produção as espécies de carpas e tilápia-de-Nilo (FAO, 2018).

De acordo com dados de PEIXEBR (2019), a piscicultura brasileira produziu 654.912 t de peixes de cultivo no ano de 2017, resultado que é 1,3 % superior ao de 2016 (640.510 t). Nos dados do IBGE (2018) fica evidenciado a maior produção de tilápia-do-Nilo em relação aos demais peixes produzidos no Brasil (Figura 1)

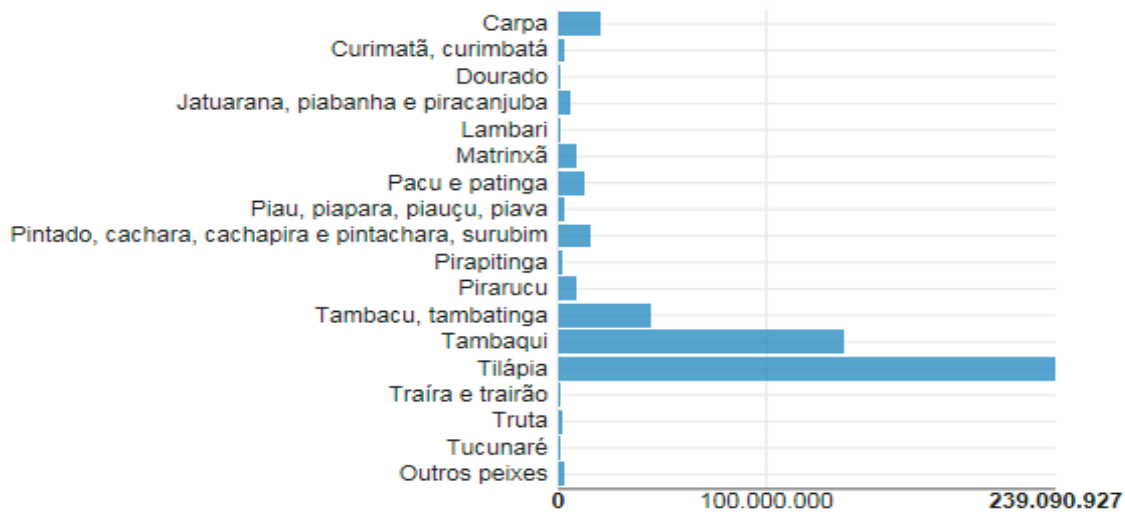


Figura 1. Produção de espécies de peixes em 2017 no Brasil.
Fonte: IBGE (2018)

A autorização da produção da tilápia-do-Nilo em estados com grande potencial de desenvolvimento da piscicultura, como Tocantins e Mato Grosso, também mostra que a participação da espécie na piscicultura brasileira deve crescer ainda mais nos próximos anos (PEIXEBR, 2019). A produção nacional de tilápia-do-Nilo colocou o Brasil entre os quatro maiores produtores da espécie no mundo, atrás de China, Indonésia e Egito como pode ser observado na Figura 2 (PEIXEBR, 2019).

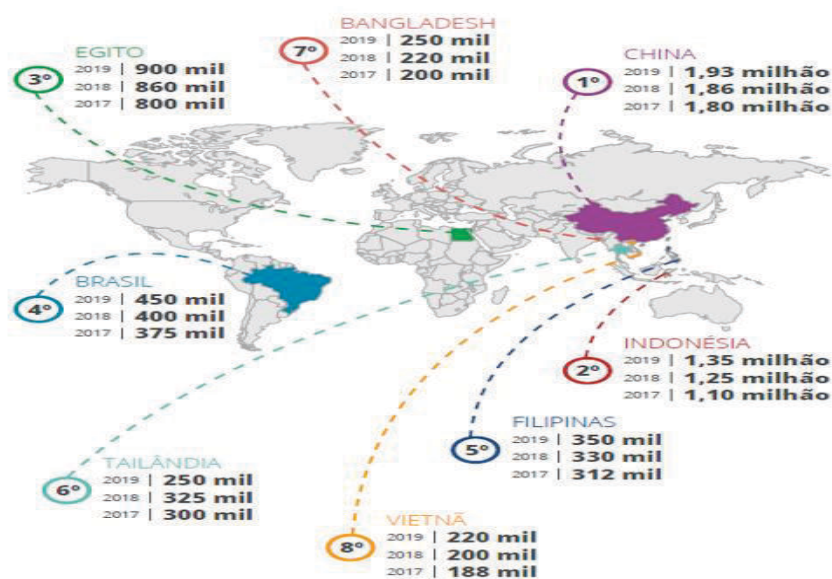


Figura 2. Produção mundial de tilápia-de-Nilo nos anos de 2017 a 2019.
Fonte: PEIXEBR (2019).

1.2 Tilápia-do-Nilo

A tilápia-do-Nilo é um peixe exótico, oriunda do continente africano na bacia do rio Nilo, leste da África (CARVALHO, 2006) e por ser uma espécie rústica para piscicultura, teve sua distribuição expandida para todos os continentes (LOVSHIN, 1997). A espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia-do-Nilo), foi introduzida no Brasil em 1997, e atualmente é a espécie de peixes mais importante cultivados no país (PEIXEBR, 2019). Segundo Nelson (1984), a tilápia-do-Nilo enquadra na seguinte categoria taxonômica:

Reino: Animal

Filo: Chordata

Superclasse: Gnathostomata

Classe: Osteichthyes

Subclasse: Actinopterygii

Ordem: Perciformes

Família: Cichlidae

Gênero: *Oreochromis*

Espécie: *Oreochromis niloticus* (Fig.3).



Figura 3. Exemplar da Tilápia-de-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Fonte: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis niloticus](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus).

A tilápia-de-Nilo possui crescimento rápido, resistência a doenças, capacidade de suportar altas densidades, tolerância a baixos teores de oxigênio dissolvido, hábito alimentar onívoro e capacidade de filtração de plâncton (QUEIROZ, 2003; SCHWARZ et al., 2011), diferente de espécies carnívoras que não apresentam rastros branquiais e, portanto, não possuem capacidade de filtração de microrganismos da água. Os peixes onívoros como o caso de tilápia-de-Nilo apresentam os rastros branquiais longos e finos (Figura 4) que permitem a apreensão e filtração das partículas alimentares (MEDEIROS e MORAES, 2013; FITZSIMMONS, 2014).

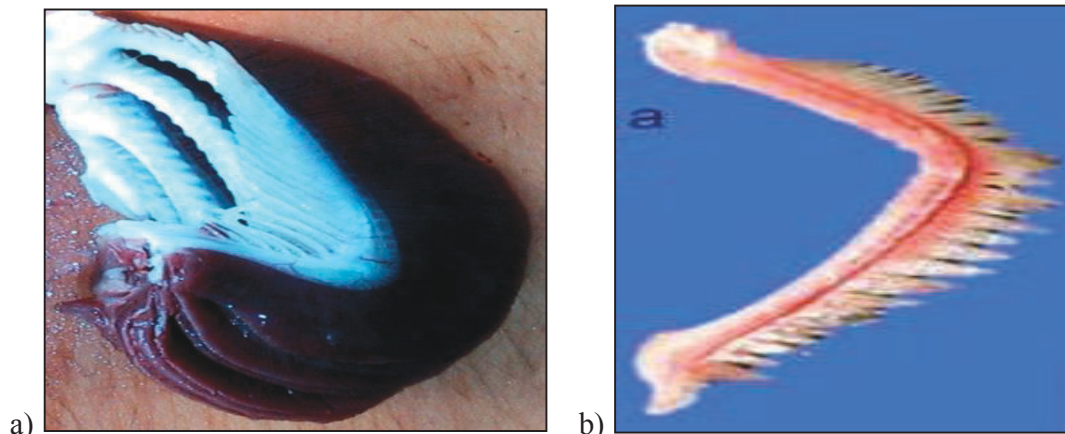


Figura 4. Filamentos branquiais e os rastros branquiais. (a) as tilápias, espécies onívoras; (b) bagres espécies carnívoras (PESSOA et al., 2013).

A tilápia-de-Nilo possui um intestino longo com a mucosa pouco pregueada, o que permite que o alimento permaneça mais tempo em contato com as enzimas aumentando assim a sua eficácia na digestão (BALDISSEROTO e VAL, 2002).

1.3 Histologia e fisiologia do intestino

O intestino é um órgão complementar do sistema digestivo dos peixes, inicia logo após o piloro (SMITH, 1980). Em tilápia-de-Nilo, a função primária do intestino é completar o processo de digestão iniciada no estômago e absorver os nutrientes, água e íons (BALDISSEROTTO, 2009). Este órgão pode ser subdividido em região anterior, média e posterior (BERTIN, 1958), embora seja relativamente arbitrária, é amplamente utilizada por vários autores (MENIN, 1988; SEIXAS FILHO, 1998; SANTOS, 1999; SOUZA, 139 1999).

A primeira região do intestino (anterior), encontra-se relacionado com a absorção de gordura sendo o seu epitélio constituído por células prismáticas altas, também chamadas de células absorptivas além das células caliciformes (BERTIN, 1958). Existe um maior número de células nas mucosas do intestino proximal devido ao fato de estas possuírem uma função de proteção da superfície dos enterócitos contra o conteúdo proveniente do estômago (LUNDSTEDT et al., 2004). A segunda região (segmento médio) é responsável pela absorção de macromoléculas proteicas, contendo maior número de células caliciformes em relação ao segmento anterior, e possui uma elevada concentração de vesículas pinocíticas em sua região supra nuclear e a presença de proteínas marcadoras de pinocitose no citoplasma dos enterócitos (ROMBOUT et al., 1985). A

terceira e último região (posterior) está relacionado com a absorção de água e eletrólitos, com o epitélio apresentando maior número de células caliciformes (MELLO, 2013).

A estrutura histológica da parede intestinal da tilápia-de-Nilo é formada por quatro camadas: mucosa externa, mucosa interna, submucosa e muscular (GENTEM et al., 2009). A mucosa é constituída por um mono camada de células epiteliais cilíndricas, os enterócitos e a submucosa é formada por camadas de tecido conjuntivo de sustentação e músculo liso, disposta longitudinalmente (WILSON e CASTRO, 2011). A camada mucosa apresenta uma variável quantidade de células dendríticas (apresentadoras de antígenos), agregados linfóides e macrófagos que circulam entre os enterócitos (GENTEM et al., 2009). O epitélio da mucosa intestinal é composto pelos enterócitos, que constituem uma monocamada de células colunares ricas em microvilosidades, células caliciformes e células endócrinas espalhadas (ROMBOUT et al., 1985). As células caliciformes localizam-se entre os enterócitos e são responsáveis pela secreção de muco e enzimas digestivas. Esse muco é constituído por glicoproteínas hidrofílicas, que protegem e lubrificam o revestimento do intestino (ROMBOUT et al., 1985). O muco secretado dificulta a adesão de microrganismos patogênicos e atua como bactericida devido à presença de lisozima (NOGA, 1995), influenciando diretamente na saúde dos animais. O aumento no número de células caliciformes está associado a processo de agressão causado por infecções bacterianas, parasitárias, produtos químicos, entre outros (SCHWARZ et al., 2011).

Ao longo do intestino encontram-se as vilosidades intestinais, que são importantes para aumentar a área de contato e favorecer a absorção dos nutrientes, compostas pelo epitélio e lâmina própria, que se projetam na luz do intestino aumentando significativamente a área de superfície intestinal (GENTEM et al., 2009; CYRINO et al., 2010). O conhecimento da mucosa intestinal dos peixes é importante para fornecer informações aos estudos de nutrição pelo fato das vilosidades intestinais estarem relacionadas com a capacidade de absorção de nutrientes pelo animal (CECHIM, 2013). O aumento das células epiteliais (enterócitos, células caliciformes e células endócrinas), correspondendo ao aumento na altura e densidade das vilosidades influenciando no desempenho e saúde dos peixes (MELLO et al., 2013).

1.4 Tecnologia de bioflocos

O aumento da demanda pelo pescado é crescente, sendo que o desenvolvimento de novas tecnologias de produção é fundamental. Neste sentido, faz-se necessário sistemas que permitam

reduzir os impactos ambientais causados pelos efluentes ricos em nutrientes produzidos pelos atuais sistemas de produção e descartados na natureza, de modo que não ocorra redução da biodiversidade, esgotamento ou comprometimento negativo de qualquer recurso natural ou alterações significativas na estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquático (VALENTI, 2002; CRAB et al., 2012; WEI et al., 2016; MIRANDA-BAEZA et al., 2017). Neste sentido, a tecnologia de bioflocos é um sistema que atende estes requisitos.

Dentre as novas tecnologias de produção em estudo e que já estão sendo utilizadas atualmente, destaca-se a tecnologia de bioflocos (BFT). A BFT foi desenvolvida pela primeira vez na década 70, pelo Ifremer- COP: *Instituto Francês de Investigação para a Exploração do Mar, Centro Oceanográfico do Pacífico*, tendo como principal característica a troca mínima ou nula de água e o crescimento de comunidades microbianas específicas (EMERENCIANO et al., 2013).

O bioflocos é constituído por partículas suspensas na água, compostas por microalgas e bactérias agregadas a restos de ração, fezes e microrganismos vivos e mortos, através da degradação da matéria orgânica pelas bactérias heterotróficas e conversão de amônia à nitrito, e de nitrito à nitrato pelas bactérias desnitrificantes (Figura 5). As bactérias que compõem o sistema bioflocos crescem e formam proteína microbiana, necessitando altas concentrações de oxigênio dissolvido e uma fonte de carbono ao meio (AZIM; LITTLE, 2008; CRAB et al., 2012).

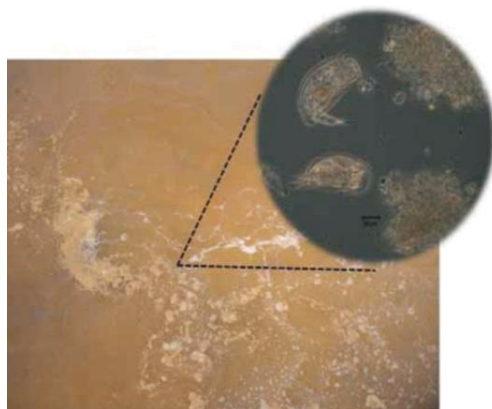


Figura 5. Imagem de bioflocos com destaque de rotíferos (FÓES et al., 2012).

O princípio da BFT está na transformação dos compostos nitrogenados dissolvidos na água, os quais são tóxicos em concentrações elevadas, através dos microrganismos presentes nos bioflocos (bactérias, fungos, microalgas, zooplâncton, como também colóides, polímeros orgânicos, cátions e matéria orgânica ciliados), mediante a adição de fontes de carbono no sistema

de cultivo (melaço, dextrose, farelo, entre outros) e consequente aumento da biomassa microbiana (DE SCHRYVER et al., 2008; FÓES et al., 2012; EMERENCIANO et al., 2017).

A BFT não descarrega resíduos em corpos de água, assim, pressões sobre o meio ambiente são mitigados, contribuindo para a expansão da produção aquícola (DESCHRYVER et al., 2008; AHMAD et al., 2016), através de ciclagem do N inorgânico, adicionado a carboidratos como fonte de energia, induzindo conversão deste nitrogênio por microrganismos presente no biofoco em biomassa microbiana, que é uma boa fonte de alimento para peixes (AVNIMELECH, 2014; PÉREZ-FUENTES et al., 2016; VILANI et al., 2016), permitindo que haja mínimas ou nenhuma renovação de água dentro do sistema aquático (CRAB et al., 2012). A tecnologia de biofocos surgiu com o objetivo de sanar problemas ambientais principalmente os relacionados com a restrição de recursos hídricos (AZIM; LITTLE, 2008).

A BFT representa um avanço em técnicas de uma aquicultura moderna e ambientalmente responsável, tendo em vista que a acumulação de formas tóxicas de nitrogênio é um dos problemas mais significativos relacionados à qualidade de água em sistemas intensivos (AVNIMELECH, 2009). Mesmo em baixas concentrações, a amônia (NH_3) e nitrito (NO_2^-) são altamente tóxicos para os peixes (BOYD; TUCKER, 1998). A forma para garantir a qualidade da água em BFT é a determinação da relação água C: N, que permite controlar nitrogênio inorgânico para o desenvolvimento de flocos microbianos, motivada pela disponibilidade e competição por carbono orgânico e nitrogênio (NOOTONG e PAVASANT, 2011; PÉREZ-FUENTES et al., 2016; VILANI et al., 2016), forte aeração e movimentação constante da água (CRAB et al., 2012).

Uma relação de carbono/ nitrogênio (C: N) ótima pode melhorar a produção e a reciclagem de nutrientes (PÉREZ-FUENTES et al., 2016). A ótima relação C: N para estimulação de crescimento de bactérias heterotróficas varia entre 12 a 20:1(C:N) (SCHNEIDER et al., 2005; WASIELESKY et al., 2006), pois em condições elevadas de C: N, as heterotróficas competem com autotróficas por oxigênio dissolvido e espaço (MICHAUD et al., 2006).

Além das bactérias heterotróficas, bactérias autotróficas e organismos planctônicos (fito e zooplâncton), protozoários e rotíferos são também constantemente relatadas nos cultivos de tilápia em BFT e auxiliam na ciclagem dos nutrientes (MARTÍNEZ-CÓRDOVA et al., 2014). O perfil da microbiota dos flocos apresenta variação devido principalmente a espécie produzida, hábito alimentar, fonte de carbono utilizada, condições ambientais de cultivo e interação com outros microrganismos (MARTÍNEZ-CÓRDOVA et al., 2014). Mesmo com as variações no perfil das

comunidades, os agregados microbianos do BFT são ricos em nutrientes como proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos e vitaminas, e complementam a dieta alimentar dos peixes cultivados (JU et al., 2008).

Devido a presença de agregado desses organismos, a BFT proporciona vários benefícios a produção aquícola, com destaque a disponibilidade contínua de alimento natural e melhoria da conversão alimentar (BOSSIER; EKASARY, 2017; EMERENCIANO et al., 2017); aumento do controle e biossegurança dos cultivos (PÉREZ-FUENTES et al., 2016; VILANI et al., 2016); menor dependência de grandes volumes de água para produção (PÉREZ-FUENTES et al., 2016; VILANI et al., 2016); EMERENCIANO et al., 2017); manutenção da qualidade da água (CRAB et al., 2012) e melhora na saúde do animal pela competição biológica com patógenos (PÉREZ-FUENTES et al., 2016; VILANI et al., 2016).

A disponibilidade rica de microbiota na BFT pode proporcionar alevinos e juvenis diferenciados (BOSSIER; EKASARY, 2017), e alterar o desenvolvimento muscular dos peixes cultivados. Isto porque o manejo alimentar pode ocasionar alterações nos padrões de aumento no volume e formação de novas fibras musculares nas fases iniciais de cultivo (KOJIMA et al., 2015). O cultivo da tilápia-de-Nilo em BFT tem inúmeras vantagens e estas refletem na melhora do desempenho dos peixes (Azim e Little (2008), relatam produção de tilápia 45% superior em BFT em relação aos tanques de água clara e, por sua vez Luo et al. (2014), obtiveram redução na conversão alimentar de juvenis de tilápia de 1,47 para 1,20 passando do sistema de produção em água clara para BFT.

Embora a BFT esteja sendo amplamente empregada para intensificação aquícola visto as inúmeras vantagens (BOSSIER e EKASARY, 2017), este sistema também apresenta entraves. Entre estes, cabe destacar a necessidade constante de energia elétrica, monitoramento frequente dos parâmetros físicos e químicos da água e mão-de-obra especializada (CRAB et al., 2012; QUINTÃ et al., 2015; PINHO et al., 2017). Empregar BFT na produção de tilápia-do-Nilo parece ser uma alternativa para solucionar a problemática relacionada ao abastecimento de alevinos e juvenis desta espécie para a engorda por meio de sistema de produção responsável, menos impactante em termos ambiental e economicamente viável. Além disso, o consumo do agregado microbiano dos bioflocos pelos peixes poderá possibilitar alevinos e juvenis mais desenvolvidos. Todavia, ainda há poucas informações científicas quanto a utilização de aditivos na água na BFT

sobre o desempenho, parâmetros hematológicos e alterações morfométricas no intestino de tilápia-do-Nilo na fase inicial de produção.

1.5 Aditivo simbiótico

Uma prática que vem ganhando espaço na aquicultura, devido aos efeitos benéficos para o hospedeiro no combate as doenças e melhoria do desempenho zootécnico é a utilização de aditivos alimentares na produção de peixes, tais como: probióticos, prebióticos e ou/ simbióticos (ABU-ELALA et al., 2014; HUYNH et al., 2017).

Os probióticos são aditivos alimentares à base de microrganismos vivos que contribuem para o equilíbrio da flora intestinal (FULLER, 1989; AKHTER et al., 2015). Além de não contaminar a água dos efluentes, fato que acontece com a utilização de antibióticos na produção de organismos aquáticos, os microrganismos probióticos servem para muitos propósitos, como no aumento da microbiota benéfica, uma vez que competem com microrganismos patógenos, inibindo a sua proliferação e colaboram para a melhora da digestibilidade, absorção de nutrientes e do desempenho zootécnico dos animais alimentados com o referido aditivo (NAYAK, 2010).

Os probióticos mais usados para práticas de aquicultura incluem *os Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Enterococcus, Carnobacterium, Shewanella, Bacillus, Aeromonas*, Espécies *Vibrio, Enterobacter, Pseudomonas, Clostridium e Saccharomyces* (NAYAK, 2010; ABU-ELALA et al., 2014). A adição desses microrganismos probióticos na dieta dos peixes proporcionam a resistência à colonização de bactérias patogênicas, produção de compostos antagonistas aos patógenos, aumento da resposta imune e resistência às doenças, melhoria da digestibilidade do alimento, da conversão alimentar, da taxa de eficiência proteica e do desempenho (VERSCHUERE et al., 2000; BALCÁZAR et al., 2006; KESARCODI-WATSON et al., 2008; BAGHERI et al. 2008; MERRIFIELD et al. 2010; PANDIYAN et al., 2013).

Trabalhos realizados com tilápia submetida a dieta com probiótico demonstram alterações na morfologia intestinal, promovendo aumento da quantidade e altura das vilosidades, aumentando a área de absorção da mucosa intestinal e o número de células caliciformes (ALY et al., 2008; ABU-ELALA et al., 2013; HASSAAN et al., 2015; HAI, 2015; ADEOYE et al., 2016). Noga (1995), explica o aumento de células caliciformes da mucosa intestinal de peixes estar relacionado com a boa qualidade do microambiente local. As células caliciformes produzem muco constituído por glicoproteínas insolúveis em água que tem papel importante na proteção contra infecções, que

impede o contato de microrganismos patogênicos com as células epiteliais e tem efeito bactericida devido à presença de lisozima e ácidos graxos de baixo peso molecular (NOGA, 1995; ABU-ELALA et al., 2013; HASSAAN et al., 2015).

O uso dos probióticos na dieta de tilápia-do-Nilo aumenta a eficiência de retenção de proteína, diminuição da eficiência de retenção de gordura, aumenta percentual de sobrevivência, promove desenvolvimento das vilosidades e aumenta a concentração das células epiteliais de revestimento e de células caliciformes da mucosa intestinal dos peixes (SILVA et al., 2005, MELLO et al., 2013; NAKANDAKARE et al., 2013 TELLI et al., 2014).

Novos estudos, afirmam uma melhoria do estado imune em tilápia-do-Nilo, quando a suplementação alimentar é feita com organismos probióticos de gênero *Bacillus* (SELIM e REDA, 2015). Srisapome e Arechon (2017), observaram resistência mais eficaz a doenças contra *Streptococcus agalactiae* em estudo avaliando a eficácia do *Bacillus pumilus* em relação a respostas imunes e aumento da resistência a doenças em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), produzidos em viveiros. O uso de microrganismos probióticos demonstram ser potenciadores do sistema imunológico e /ou promotores de crescimento em sistemas de produção intensiva de tilápias (HAI, 2015; ADEOYE et al., 2016), pois ações desses microrganismos aumentam a imunidade de respostas, e uma melhoria das taxas de crescimento e sobrevivência da tilápia (ABU-ELALA et al., 2013; HASSAAN et al., 2015; SELIM e REDA, 2015; ADEOYE et al., 2016).

O sucesso dos probióticos levou ao desenvolvimento de outros conceitos como os prebióticos. Gibson e Roberfroid (1995), definem prebióticos como sendo aditivos considerados ingredientes que não são digeridos pelas enzimas digestivas do hospedeiro, mas fermentados pela flora bacteriana do trato digestório originando substâncias que estimulam seletivamente o crescimento, a atividade de bactérias benéficas e inibem a colonização de bactérias patogênicas.

Estes aditivos podem estar presentes nos ingredientes da dieta e ou/ são adicionados por meio de fontes exógenas concentradas. Dentre eles, encontram-se os derivados de bactérias e leveduras, como a muramil-dipeptídeo, lipopolissacarídeos, adjuvante completo de Freund; bacterinas de diversas espécies; polissacarídeos como glucanas, quitina e quitosana presentes no exoesqueleto de crustáceos e na parede celular de alguns fungos, oligossacarídeos, mananoligossacarídeo (MOS), fruto-oligossacarídeo (FOS), Cadeia curta (Sc) FOS, inulina, oligossacarídeo de quitosana (COS), galacto-oligossacárido (GOS), arabino-xilo-oligossacárido

(AXOS) e isomalto-oligossacarídeo (IMO) (GIBSON E ROBERFROID, 1995), utilizadas como prebióticos, devido a sua seletividade fermentativa (SILVA e NORBERG, 2003).

Os mananoligossacarídeo são prebióticos extraídos de células de leveduras adicionado à dieta dos peixes, onde atuam positivamente no sistema imune e na absorção de nutrientes no intestino anterior (GIBSON E ROBERFROID, 1995). Segundo Moran (2004), os mananoligossacarídeos (MOS) representam 25 a 50% da parede celular das leveduras, e podem ser incluídas a adsorção de bactérias patogênicas e a modulação do sistema imune do hospedeiro. A utilização de MOS na dieta dos animais serve para estimular o desenvolvimento da mucosa e reduzir a produção de amônia, também age como sítio de aderência de alta afinidade para patógenos com fimbrias de manose-específicas ou tipo I, impedindo-as de aderirem às células intestinais, fazendo com que se movam pelo intestino sem colonizá-lo (FAIRCHILD et al., 2001).

Samrongpan et al. (2008) observaram maior sobrevivência de juvenis de tilápia-do-Nilo desafiados com *Streptococcus agalactiae* quando estes foram suplementados com 0,6% mananoligossacarídeo durante 21 dias. Schwarz et al. (2010), trabalhando com juvenis de tilápias do Nilo, observaram que a inclusão de 1% de mananoligossacarídeo foi adequada para melhor conversão, eficiência proteica e aumento da altura dos vilosidade. Os prebióticos em geral não devem ser hidrolisados ou absorvidos no intestino delgado, pois normalmente atuam como substrato seletivo para determinado grupo de bactérias comensais benéficas, sendo capaz de alterar de forma positiva a microbiota intestinal (GIBSON e ROBERFROID, 1995), garantindo desta forma a integridade da mucosa intestinal para melhores condições de desenvolvimento.

Outra fonte de prebióticos são as algas marinhas, ricas em *polissacarídeos sulfatados*, constituídos por moléculas como o caso de açúcares raros e grupos sulfato, que exercem atividades anticoagulante, antitrombótica, antiviral, antitumoral, anti-proliferativa e anti-inflamatória (ATHUKORALA et al., 2007). Sua elevada quantidade de fibras, que pode atingir até 75% do seu peso seco, é maioritariamente solúvel lhes conferindo um enorme potencial nutricional.

Abu-Elala et al. (2013), estudando a inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* e mananoligossacarídeo na dieta para tilápia-de-Nilo verificaram aumento significativo nas proteínas totais séricas e globulinas dos peixes suplementados com mananoligossacarídeo (2,0 g kg⁻¹). As proteínas totais do soro estão associadas à resposta inata e são compostas por albuminas e globulinas, sendo a globulina subdividido em alfa, beta e gama (ANDREWS et al., 2011), onde a fração gama constitui a principal fonte de toda a proteína imunologicamente ativa no sangue.

O mecanismo de ação dos prebióticos é focada na melhora das condições luminiais, com estímulo do crescimento das bactérias benéficas no trato gastrointestinal, melhora das características morfológicas do epitélio intestinal e como consequência a melhoria do desempenho animal (Silva e Nörnberg, 2003). O seu efeito ocorre também ao nível do epitélio intestinal, onde se ligam à receptores específicos, absorvidos e ativado a resposta imune local (MATHEW et al., 1993). Doses inadequadas podem ocasionar um desequilíbrio na microbiota intestinal, afetando a saúde e o desempenho animal (MACFARLANE e CUMMINGS, 1999).

Mais recentemente surgiu os aditivos simbióticos, os quais contém tanto probióticos quanto prebióticos (HASSAAN *et al.*, 2014; HUYNH *et al.*, 2017). Presume-se que ela comunique os efeitos benéficos de ambos aditivos. Segundo Badaró *et al.* (2008), essas combinações trazem mais benefícios do que os ingerir separadamente, pois os prebióticos proporcionam um substrato mais adequado para viabilizar e adaptar as bactérias probióticas à microbiota intestinal do hospedeiro, favorecendo sua multiplicação e sua ação funcional.

Os simbiótico constitui uma mistura de probióticos e prebióticos que afeta beneficemente o hospedeiro melhorando a sobrevivência e implantação de dieta microbiana viva no trato gastrointestinal, estimulando seletivamente o crescimento e / ou ativando o metabolismo de um número de bactérias promotoras da saúde, melhorando assim o bem-estar (GIBSON E ROBERFROID, 1995 CERZUELA *et al.*, 2011; DE *et al.*, 2014; RINGØ *et al.*, 2014). Este aditivo altera a comunidade bacteriana intestinal e aumenta a colonização (HASSAAN *et al.*, 2015; HUYNH *et al.*, 2017), promove saúde, melhores índices zootécnicos, diminuindo a mortalidade cumulativa de peixes desafiados com vários patógenos (ALY *et al.*, 2008; SELIM e REDA, 2015; ADEOYE *et al.*, 2016).

Hassaan *et al.* (2014), avaliando o efeito dos simbióticos entre *Bacillus licheniformis* e extrato de levedura no crescimento, índices hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), relataram melhora nos índices hematológicos, em tilápia-de-Nilo submetidos a dieta com simbiótico. Azevedo *et al.* (2015), estudando economicamente a adição de prebiótico (MOS), probiótico (*B. subtilis*) e simbiótico (MOS + *B. subtilis*) na dieta de juvenis de tilápia-do-Nilo, observaram melhores índices zootécnicos e eficiência econômica em dietas com simbiótico em relação as dietas controle. Ainda outros resultados com melhor desempenho de crescimento taxa de sobrevivência surpreendentes foram observados por Agung *et al.* (2015), avaliando a eficácia da suplementação de probiótico micro-encapsulado (*Bacillus* NP5), prebiótico

(MOS) e combinação desses aditivos (simbiótico) na ração melhorou o desempenho e a resposta imune da tilápia-do-Nilo.

Os simbióticos têm sido usados para promover o crescimento e o sistema imunológico de animais aquáticos (HASSAAN *et al.*, 2014; HUYNH *et al.*, 2017), alteram as comunidades bacterianas intestinais e aumentam a colonização (BADARÓ *et al.*, 2008), melhoram a saúde dos peixes, através do aumento das respostas imunitárias as doenças infecciosas, diminuindo a mortalidade (AKHTER *et al.*, 2015), reduzindo desta forma o uso de quimioterápicos na cadeia produtiva (GIBSON E ROBERFROID, 1995; BARBOSA *et al.*, 2005; CEREZUELA *et al.*, 2011; DE *et al.*, 2014; RINGØ *et al.*, 2014; HUYNH *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2018)

Neste contexto, evidencia-se que o simbiótico tem efeito benéfico nos peixes quando incorporado na ração em sistema de água clara, mas faltam informações científicas quanto ao benefício da utilização deste aditivo administrado na água da BFT.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o desempenho zootécnico, características hematológicas e morfométricas do intestino de tilápia-do-Nilo produzida em tecnologia de bioflocos com a utilização de simbiótico.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o desempenho zootécnico de pós-larvas de tilápia-do-Nilo produzida em tecnologia de bioflocos com a utilização de simbiótico.

Avaliar as características morfométricas do intestino de pós-larvas de tilápia-do-Nilo produzida em tecnologia de bioflocos com a utilização de simbiótico.

Avaliar o desempenho zootécnico de Juvenis de tilápia-do-Nilo produzida em tecnologia de bioflocos com a utilização de simbiótico.

Avaliar as características hematológicas de Juvenis de tilápia-do-Nilo produzida em tecnologia de bioflocos com a utilização de simbiótico.

Avaliar as características morfométricas do intestino de pós-larvas de tilápia-do-Nilo produzida em tecnologia de bioflocos com a utilização de simbiótico.

REFERÊNCIAS

- ABU-ELALA, N.; MARZOUK, M.; MOUSTAFA, M. (2013). Use of different *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, v. 1, p. 21–29.
- ADEOYE, A. A.; YOMLA, R.; JARAMILLO-TORRES, A.; RODILES, A.; MERRIFIELD, D. L.; DAVIES, S. J. (2016). Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome. *Aquaculture*, v. 463, p. 61–70.
- AHMAD, I.H.; VERMA A.K.; RANI, B. A.M.; RATHORE, G.; SAHARAN, N.; GORA, A. H. (2016). Growth, non-specific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* in biofloc systems using different carbon sources. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 457, n. 20, p. 61-67.
- ALY, S. M.; AHMED, Y.; GHAREEB, A. A.; MOHAMED, M. F. (2008). Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 25, p. 128 – 136.
- ANDREWS, S.R.; SAHU, N.P.; PAL, A.K.; MUKHERJEE, S.C.; KUMAR, S. (2011). Yeast extract, brewer's yeast and spirulina in diets for *Labeo rohita* fingerlings affect haematoimmunological responses and survival following *Aeromonas hydrophila* challenge. *Research in Veterinary Science*, v. 91, n.3, p.103-109.
- ATHUKORALA, Y.; LEE, K. W.; KIM, S. K.; JEON, Y. J. (2007). Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource Technology*, v. 98, n.9, p. 1711-1716.
- AVNIMELECH, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio flocs technology ponds. *Aquaculture*, vol. 264, p. 140 147.
- AZEVEDO, R.V.; FOSSE FILHO, J.C.; CARDOSO, L.D.; MATTOS, D.C.; VIDAL JÚNIOR, M.V.; ANDRADE, D.R. 2015. Economic evaluation of prebiotics, probiotics and symbiotics in juvenile Nile tilapia. *Revista de Ciência Agronômica*, v. 46, n. 1, p. 72-79.
- BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRES, A. P. M.; REZENDE, A. C. V.; STRINGHETA, P. C. (2008). Alimentos Probióticos: aplicações como promotores da saúde humana - Parte 1. *Revista Digital de Nutrição*. v.2, n.3, p. 200-2003.
- BALDISSEROTTO, B. (2009). Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Santa Maria: Ed. UFSM. 350p.
- BALDISSEROTTO, B.; VAL, A.L. (2002). Ion fluxes of *metynnis hypsauchen*, a teleost from the Rio Negro, Amazon, exposed to an increase of temperature. *Brazilian Journal of Biology*, Sao Paulo, v.62, n.4B, p.749-752.
- BERTIN, L. (1958). Appareil digestif. *Traité de zoologie*. V.13, Paris: Masson, p. 1249-1301.
- BOSSIER, P.; EKASARI, J. (2017). Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. *Microb. Biotechnol.* n. 10, p. 1012–1016.

- BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. Pond aquaculture water quality management. 1ª. ed. luwer Academic Publishers, Norwell, MA. 1998. 685 p.
- BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C. (2003). Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 219, n. 1-4, p. 393-411.
- CARVALHO, E. D. (2006). Avaliação dos impactos da piscicultura em tanques-rede nas represas dos grandes tributários do alto Paraná (Tietê e Paranapanema): o pescado, a ictiofauna agregada e as condições limnológicas. *Relatório Científico - FAPESP*. v.22, n.4, p1-46.
- CECHIM F.E. (2013). Características morfológicas do epitélio intestinal e desempenho de Tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, suplementada com mananoligossacarídeo (MOS). Dissertação de Mestrado em Produção Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná.
- CEREZUELA, R.; MESEGUER, J.; ESTEBAN, M.A. (2011). Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: a review. *Journal of Aquaculture Research & Development*. P. 2 – 7.
- CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. (2012). Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, vol. 356 357, p. 351 356.
- CYRINO, J.E.P.; BICUDO, A.J.A.; SADO, R.Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J.K. A. (2010). piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista brasileira de zootecnia*, Viçosa, v. 39, p.68-87.
- DE AZEVEDO, R. V.; FOSSE FILHO, J. C.; PEREIRA, S. L.; CARDOSO, L. D.; VIDAL JÚNIOR; M. V.; ANDRADE, D. R. (2016). Suplementação com prebiótico, probiótico e simbiótico para juvenis de tambaqui a duas densidades de estocagem. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.51, n.1, p.9-16.
- DE SCHRYVER, P, R.; CRAB, T DEFOIRDT, N BOON; W VERSTRAETE. (2008). The basics of bio-flocs technology: The benefit for aquaculture. *Aquaculture*, v. 277: p. 125–137.
- DE, B.C.; MEENA, D.K.; BEHERA, B.K.; DAS, P.; DAS MOHAPATRA, P.K.; SHARMA, A.P. (2014) Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiol Biochem*, v. 40, p. 921–971.
- DIAS, D.C.; STÉFANI, M.V.; FERREIRA, C.M.; FRANÇA, F.M. (2008). Uso de probiótico em ração de rã-touro, *Rana catesbeiana*: desempenho produtivo. *Archivos de Zootecnia*, v. 57, p. 449-455.
- EMERENCIANO, M. G. C.; MARTINEZ-CÓRDOVA, L. R.; MARTINEZ-PORCHAS, M.; MIRANDA- BAEZA, A. (2017). Biofloc Technology (BFT): A Tool for water Quality Management in Aquaculture. *World's largest Science, Technology & Medicine*. 92- 10 p.
- FAIRCHILD, A. S.; GRIMES, J. L.; JONES, F. T.; WINELAND, M. J.; EDENS, F. W.; SEFTON, A. E. (2001). Effects of hen age, Bio-Mos, and flavomycin on poult susceptibility to oral *Escherichia coli* challenge. *Poultry Science*, v. 80, n. 5, p. 562- 571.
- FÓES, G. K.; GAONA, C. A. P.; POERSCH, L. H. (2012). Cultivo em bioflocos (BFT) é eficaz na produção intensiva de camarões. *Seguimento de aquacultura, visão agrícola* nº 11, dezembro de 2012. p. 28 – 32.

- FULLER, R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 66, p. 365–378
- GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. (2009). Atlas of fish histology. Enfield: Science Publ., 215p.
- GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, v.125, p.1401-1412.
- HAI, N. V. (2015). Research findings from the use of probiotics in tilapia aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 45, p. 592 - 597.
- HASSAAN, M. S.; SOLTAN, M. A.; GHONEMY, M. M. R. (2014). Effect of synbiotics between *Bacillus licheniformis* and yeast extract on growth, hematological and biochemical indices of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Egyptian Journal of Aquatic Research*, v. 40, p. 199–208.
- HUYNH, T. G.; SHIU Y. L.; NGUYEN, T. P.; TRUONG, Q. P.; CHEN, J. C.; LIU, C. H. (2017). Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 64, p. 367 - 382.
- JU, Z.Y.; FORSTER, I.; CONQUEST, L.; DOMINY, W.; KUO, W.C.; DAVID HORGAN, F. (2008). Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture*. V.39, 118–133.
- KOJIMA, J.T.; LEITÃO, N.J.; MENOSSE, O.C.C.; FREITAS, T.M.; DAL-PAI SILVA, M.; PORTELLA, M.C. (2015). Short periods of food restriction do not affect growth, survival or muscle development on pacu larvae. *Aquaculture*, 436, p.137–142.
- LEE, S.; KATYAC, K.; HAMIDOGHLIA, A.; HONGB, J.; KIM, D. (2018). Synergistic effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* WB60 and mannanoligosaccharide (MOS) on growth performance, immunity and disease resistance in Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish and Shellfish Immunology*, v. 83, p. 283–291.
- LONG, L., YANG, J., LI, Y., GUAN, C., WU, F. (2015). Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia- *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, v. 448, p.135–141.
- LOVSHIN, L.L. (1997). Tilapia farming: a growing world wild aquaculture industry. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO E PEIXES, 1, Piracicaba. *Anais...Piracicaba: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal*, p.137.
- LUNDSTEDT, L. M.; MELO, J. F. B.; MORAES, G. (2004). Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Amsterdam, v. 137, n. 3, p. 331-339.
- LUO, G.; GAO Q.; WANG C.; LIU W.; SUN D.; LI L.; TAN H. (2014). Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture*, v.422, p.1-7.
- MACFARLANE, G. T.; CUMMINGS, J.H. (1999). Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? *BMJ*, London, v.18, p.999-1003.

- MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L.R.; EMERENCIANO, M., MIRANDA-BAEZA, A., MARTÍNEZ-PORCHAS, M. (2014). Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp, *Reviews in Aquaculture*, n. 7, p. 131–148.
- MATHEW, A. G.; SUTTON A. L.; SCHEIDT, A. B.; PATTERSON, J. A.; KELLY, D. T.; MEYERHOLTZ, K. A. (1993). Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum on the weanling pig. *Journal of Animal Science*, v. 71, n.6, p.1503-1509.
- MELLO, H.; MORAES, J.R.E.; NIZA, I.G.; MORAES, F.R.; OZÓRIO, R.O.A.; SHIMADA, M.T.; ENGRACIA FILHO, J.R.; CLAUDIANO, G.S. (2013). Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n.6, p. 724-730.
- MENIN, E. 1988. Anátomo-histologia funcional comparativa do aparelho digestório de seis Teleostei (Pisces) de água doce. São Paulo, SP: USP, 557p. Tese (Doutorado em Anatomofisiologia) - Universidade de São Paulo.
- MERRIFIELD, D.L.; DIMITROGLOU, A.; FOEY, A.; DAVIES, S.J.; BAKER, R.; BOGWALD, J.; CASTEX, M.; RINGO, E. (2010). The status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, v. 302, p.1-18
- MICHAUDA, L.; BLANCHETONB J.P.; BRUNIA, V.; PIEDRAHITA, R. (2006). Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. *Aquacultural Engineering*, Oxford, v. 34, n. 3, p. 224-233.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Instrução Normativa nº 13/2004. *Diário Oficial da União* (01/12/2004), seção 1, 63p.
- MIRANDA-BAEZA, A., MARISCAL-LÓPEZ, M.A., LÓPEZ-ELÍAS, J.A., RIVAS-VEGA, M.E., EMERENCIANO, M., SÁNCHEZ-ROMERO, A., ESQUER-MÉNDEZ, J.L., 2017. Effect of inoculation of the cyanobacteria *Oscillatoria* sp. on tilapia Biofloc culture. *Aquaculture Research*. 48, 4725–4734 p.
- MORAN, C. A. (2004). Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan. In: INTERNATIONAL FEED INDUSTRY SYMPOSIUM, 20, 2004, *Lexington. Proceedings...* Lexington: Alltech, p. 280-296
- NAKANDAKARE, I.B.; IWASHITA, M.K.P.; DIAS, D.C.; TACHIBANA, L.; RANZANIPAIVA, M.J.T.; ROMAGOSA, E. (2013). Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilápias-do-nilo: parâmetros hematológicos, imunológicos e microbiológicos. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 39, n. 2, p. 121-135.
- NAYAK, S.K. 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish Shelf Immunology*, v. 29, n. 2, p.2-14.
- NELSON, J.S. *Fishes of the World*. 2 ed. John Wiley. p.89, 1984.
- NOGA, E.J. (1995). *Fish Disease. Diagnosis and Treatment*. Mosby - Yearbook, St Louis. 367p
- NOOTONG, K.; PAVASANT, P. (2011). Effects of organic carbon addition in controlling inorganic nitrogen concentrations in a biofloc system. *Journal of the World Aquaculture Society*, Baton Rouge, v. 42, n. 3, p. 339-346.

- PANDIYAN, P.; BALARAMAN, D.; THIRUNAVUKKARASU, R.; GEORGE, E. G. J.; SUBARAMANIYAN, K.; MANIKKAM, S.; SADAYAPPAN, B. (2013). Probiotics in Aquaculture. *Journal homepage*, p. 55- 59.
- PEIXEBR- Associação Brasileira da piscicultura (2019). Disponível em: <https://www.peixebr.com.br>., acesso em 29 de janeiro 2019.
- PÉREZ-FUENTES, J. A.; HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P.; PÉREZ-ROSTRO, C. I.; FOGEL, I. (2016). C: N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture*, v. 452, n. 1, p. 247-251.
- PESSOA, E. K. R.; Da Silva, N. B.; CHELLAPPA, N. T.; SOUZA, A. A.; CHELLAPPA, S. (2013). Morfologia comparativa do trato digestório dos peixes *Hoplias malabaricus* e *Hypostomus pusalurum* do açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte. *Biota Amazônia*, v. 3, n. 1, p. 48-57.
- PINHO, S.M.; MOLINARI, D.; MELLO, G.L.; FITZSIMMONS, K.M.; COELHO EMERENCIANO, M.G. (2017). Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the aquaponics production of different lettuce varieties. *Ecological Engineering*, v.103, p. 146–153.
- QUINTÃ, R.; SANTOS, R.; THOMAS, D.N.N.; LE VAY, L. (2015). Growth and nitrogen uptake by *Salicornia europaea* and *Aster tripolium* in nutrient conditions typical of aquaculture wastewater. *Chemosphere*, v. 20, p. 414–421.
- RAY, A.J., SEABORN, G., LEFFLER, J.W., WILDE, S.B., LAWSON, A., BROWDY, C.L. (2010). Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*. 310, p.130–138.
- RINGØ, E.; OLSEN, R.E.; JENSEN, I., ROMERO, J.; LAUZON, H.L. (2014). Application of vaccines and dietary supplements in aquaculture: possibilities and challenges. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v. 24, p. 1005–1032.
- ROMBOUT, J. H. W. M.; BOT, H. M. TAVERNE-THIELE, J. J. (1989). Immunological importance of the second gut segment of carp: characterization of mucosal leucocytes. *J. Fish Biol.*, London, v. 35, p. 167-178.
- SAKAI, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, Oxford, v. 172, p. 63-92.
- SAMRONGPAN, C.; AREECHON, N.; YOONPUNDH, R.; SIRSAPOOME, P. (2008). Effect of mannan oligosaccharides on growth, survival and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) fry. In: *8 th International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, Egypt, p. 345 - 53.
- SANTOS, G.C. E; ZUCOLOTO, S. (1999). Células endócrinas gastrointestinais: breve histórico e principais métodos de identificação a microscopia óptica. *Arq. Gastroenterol*, v.33, p.36-44.
- SCHNEIDER, O.; SERETI, V.; EDING, E.H.; VERRETH, J.A.J. (2005). Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, Oxford, v. 32, n. 3-4, p. 379-401.
- SCHWARZ, K. K.; DO NASCIMENTO, J. C.; GOMES, V. A. A.; DA SILVA, C. H.; J SALVADOR, G.; FERNANDES, M. R.; NUNES, R. M. (2016). Desempenho Zootécnico De

- Alevinos De Tilápias Do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Alimentados Com Levedura De *Saccharomyces cerevisiae*. *Holos*, v. 3, n. 32, p. 104- 1012.
- SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; MICHELATO, M.; GUALDEZI, M. C. (2010). Mananoligossacarídeo em dietas para juvenis de tilápias do Nilo. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 32, n. 2, p. 197-203.
- SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; MICHELATO, M.; GUALDEZI, M. C. (2011). Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, n.12, p.2634-2640.
- SEIXAS FILHO, J. T. (1998). Anatomia funcional e sistemas enzimáticos e endócrinos de teleosteo de água doce com hábitos alimentares diferentes. Viçosa, MG: UFV, 175p., Dissertação de doutorado em Zootecnia- Universidade Federal de Viçosa.
- SELIM, K. M.; REDA, R. M. (2015). Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 44, p. 496 – 503.
- SILVA, J. R. M. C.; PORTO-NETO, L. R.; BORGES J. C. S.; JENSCH-JUNIOR B. E. (2005). Germicide capacity of macrophages in the Antarctic fish *Notothenia coriiceps* (Richardson, 1844) at 0°C. *Polar Biology*, v. 28, n. 4, p. 326-328.
- SILVA, L.P.; NÖRNBERG, J.L. (2003). Prebióticos na nutrição de não ruminantes. *Ciência Rural*, v. 33, n. 5, p. 983-990.
- SMITH, L.S. 1980. Digestion in teleost fish. In: Lectures presented at the FAO/UNPD training course in fish feed technology, ADCP/REP/80/11, p 3-17.
- SOUZA, M.L.R.; MACEDO-VIEGAS E.M.; KRONKA, S.N. (1999). Influência do método de filetagem e categorias de peso sobre rendimento de carcaça, filé e pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.28, n.1, p.1-6.
- SRISAPOOME, P.; AREECHON, N. (2017). Efficacy of viable *Bacillus pumilus* isolated from farmed fish on immune responses and increased disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Laboratory and on-farm trials. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 67, p. 199 - 210.
- TELLI, G. S.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; DIAS, D.C.; SUSSEL, F.R.; ISHIKAWA, C. M.; TACHIBANA, L. (2014). Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and nonspecific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 39, n. 2 p. 305-311.
- Thompson, F.L., Abreu, P.C., Wasielesky, W., (2002). Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, p. 263–278.
- VALENTE, L.M.P., MOUTOU, K.A., CONCEIÇÃO, L.E.C., ENGROLA, S.; FERNANDES, J.M.O.; JOHNSTON, A. (2013). What determines growth potential and juvenile quality of farmed fish species? *Reviews in Aquaculture* v.5, n.1, p. 168-193.
- VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology*, v. 64, p.655-671.

VILANI, F. G.; SCHVEITZER, R.; ARANTE, R. F.; VIEIRA, F. N.; SANTO, C. M. E.; SEIFFERT, W. Q. (2016). Strategies for water preparation in a biofloc system: Effects of carbon source and fertilization dose on water quality and shrimp performance. *Aquacultural Engineering*, Oxford, v. 74, n. 1, p. 70-75.

WASIELESKY, W. Jr.; ATWOOD, H.; STOKES, A.; BROWDY, C. L. (2006). Effect of natural production in a zero-exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 258, n. 1-4, p. 396-403.

WEI, Y.; LIAO, S.; WANG, A. (2016). The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 465, n. 1, p. 88-93.

WILSON, J. M.; CASTRO, L. F. C. (2011). Morphology diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In: CROSSEL, M.; FARRELL, A. P.; BRANER, C. J. (Ed). *Fish physiology: the multifunctional gut of fish*. London: *Elsevier*, p.2-56.

SIMBIÓTICO EM TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS (BFT) MELHORA O DESEMPENHO E A IMUNIDADE DE ALEVINOS DE TILÁPIA-DO-NILO

Resumo: O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o desempenho produtivo e morfometria do intestino de alevinos de tilápia-do-Nilo produzidas em tecnologia de bioflocos (BFT) com adição de simbiótico. Pós-larvas com peso de $0,085 \pm 0,002$ g e comprimento total de $1,41 \pm 0,04$ cm foram alocadas em oito caixas plásticas de 12 litros. Em cada caixa foram alocadas 100 pós-larvas, totalizando 800 pós-larvas no experimento. As pós-larvas foram produzidas em BFT com simbiótico e sem simbiótico, sendo utilizado quatro caixas para cada tratamento. O peso final, comprimento total, ganho em peso e taxa de crescimento específico foram maiores ($P < 0,05$) nos peixes produzidos no BFT com simbiótico ($2,66 \pm 0,08$ g; $5,09 \pm 0,16$ cm; $2,57 \pm 0,08$ g; $2,57 \pm 0,08\%$) em relação aos peixes produzidos em BFT sem simbiótico ($2,38 \pm 0,01$ g; $4,83 \pm 0,05$ cm; $2,30 \pm 0,01$ g; $8,32 \pm 0,04\%$). A espessura da camada muscular interna e a densidade de células caliciformes do intestino foram maiores ($p < 0,05$) nos peixes produzidos em BFT com simbiótico. Por outro lado, a largura da vilosidade do intestino foi maior ($p < 0,05$) nos peixes produzidos em BFT sem simbiótico. Conclui-se que a utilização de simbiótico em BFT melhora o desempenho e promove algumas alterações na morfometria e densidade celular do intestino das pós-larvas de tilápia-do-Nilo.

- **Palavras-chave:** Alevinocultura, morfologia intestinal, *Oreochromis niloticus*, sistema de produção

BIOFLOCK TECHNOLOGY (BFT) IMPROVEMENT PERFORMANCE AND IMMUNITY OF NILO TILAPIA ALEVINES

Abstract: The aim of this study was to evaluate the productive performance and intestinal morphometry of Nile tilapia fingerlings produced in symbiotic biofloc technology (BFT). Post larvae weighing 0.085 ± 0.002 g and total length of 1.41 ± 0.04 cm were allocated to eight 12-liter plastic boxes. In each box, 100 post larvae were allocated, totaling 800 posts larvae in the experiment. The post larvae were produced in symbiotic and non symbiotic BFT, and four boxes were used for each treatment. The final weight, total length, weight gain and specific growth rate were higher ($P < 0.05$) in fish produced in symbiotic BFT (2.66 ± 0.08 g; 5.09 ± 0.16 cm; 2.57 ± 0.08 g; $2.57 \pm 0.08\%$) compared to fish produced in BFT without symbiotic (2.38 ± 0.01 g; 4.83 ± 0.05 cm; 2.30 ± 0.01 g; $8.32 \pm 0.04\%$). The thickness of the internal muscle layer and the goblet cell density of the intestine were higher ($p < 0.05$) in fish produced in symbiotic BFT. On the other

hand, the gut villi width was larger ($p < 0.05$) in fish produced in BFT without symbiotic. It was concluded that the use of symbiotic in BFT improves performance and promotes some changes in intestinal morphometry and cell density of Nile tilapia post larvae.

- **Keywords:** Alvinoculture, intestinal morphology, *Oreochromis niloticus*, production system.

Introdução

A tilápia-do-Nilo é uma das espécies de peixe mais produzidos no mundo (FAO, 2018) e a mais produzida no Brasil (IBGE, 2019). Para atender a grande demanda de produção deste peixe é necessário melhoras nos sistemas de produção na fase de pós-larva até alevino visando atender à crescente demanda de alevinos de qualidade.

Tradicionalmente a produção de alevinos ocorrem em viveiros dentro de hapas (Little e Hulata, 2002; Marengoni e Wild, 2014). Alternativamente, a tecnologia de bioflocos (BFT) pode permitir aumentar a produção de alevinos mediante melhora na densidade, sobrevivência e desempenho em relação aos peixes produzidos em sistemas de água clara (Crab et al., 2012).

A BFT que se enquadra como um dos mais apropriados e promissores sistemas de produção para o desenvolvimento sustentável da aquicultura (Avnimelech, 2009), funciona basicamente por meio de reciclagem de nutrientes, com ajuste da relação carbono/nitrogênio (C/N) na água, que resulta no crescimento de colônias de bactérias heterotróficas que convertem os compostos nitrogenados em biomassa microbiana, mantendo a qualidade da água e servindo como alimento para os organismos aquáticos cultivados (Avnimelech, 2007).

Dessa forma, a BFT permite manutenção da qualidade de água sem a necessidade de trocas constantes de água e, conseqüentemente, reduz o risco com impactos ambientais (Emerenciano et al., 2017; Durigon et al., 2019). Além disso, esta tecnologia possibilita melhor produtividade e diminuir custos com a alimentação, tendo em vista que a BFT é rica em diversos microrganismos vivos, podendo alcançar níveis de proteína bruta e até 50% (Azim e Little, 2008; Rocha et al., 2012). Outro benefício desta tecnologia é que as colônias de microrganismos podem ser aproveitadas como alimento por algumas espécies de organismos aquáticos com capacidade filtradora (Crab et al., 2012).

Tendo em vista a grande disponibilidade de microrganismos da BFT (De Schryver et al., 2008; Fóes et al., 2012; Pérez-Fuentes et al., 2016; Vilani et al., 2016) a utilização de aditivos como prebiótico, probiótico e simbiótico podem aumentar a eficiência do sistema, mediante a

diversidade de bactérias na melhora da qualidade de água e também na alimentação (Abu-Elala et al., 2013; Huynh et al., 2017), considerando a grande importância do alimento vivo para os peixes.

Pesquisas com os referidos aditivos incorporados na ração tem sido realizado em água clara (Aly et al., 2008; Abu-Elala et al., 2013; Hassaan et al., 2015; Adeoye et al., 2016; Huynh et al., 2017), mas faltam dados científicos quanto a utilização de simbiótico em BFT na produção de alevinos de tilápia-do-Nilo. O estudo foi realizado como objetivo avaliar o desempenho e morfometria do intestino de alevinos de tilápia-do-Nilo produzidas em tecnologia de bioflocos com adição de simbiótico.

Material e Métodos

Local e peixes

O experimento foi realizado no Laboratório da Estação Experimental da Piscicultura (20°30'04,6" S, 54°36'37,8" W) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMS (Protocolo nº: 904/2017).

Foram utilizados pós-larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) da variedade GIFT (*Genetically Improved Farmed Tilapia*) da sétima geração de seleção e melhoramento genético, obtidos através de manejo reprodutivo em hapas (15 m³) onde foram alocados 3 machos e 6 fêmeas na proporção de 2:1 (Kubitza 2011; Yoshida et al. 2015) e, posteriormente, as pós-larvas foram capturadas e alocadas nas unidades experimental.

Unidade e desenho experimental

As pós-larvas ficaram 10 dias em aclimatação em tanques circular de 500 litros, com renovação diária de 25% e aeração constante. Pós-larvas com peso de 0,085±0,002g e comprimento total de 1,41±0,04 cm, foram submetidos a um jejum de 24 horas e, posteriormente, foram distribuídas 800 pós-larvas em oito caixas plásticas de 12 litros (100 peixes/caixa) instaladas no laboratório. Os peixes foram produzidos em tecnologia de bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico. O simbiótico (Tabela 1), foi adicionado diretamente na água semanalmente na dosagem de 0,2 mg L⁻¹ (recomendação comercial do produto). O experimento foi inteiramente casualizado com dois tratamentos (BFT com simbiótico e BFT sem simbiótico) e quatro repetições, totalizando oito unidades experimentais.

Tabela 1. Composição nutricional da ração e composição de simbiótico fornecidas na fase de pós-larvas até alevinos de de tilápia-do-Nilo em BFT durante 40 dias de produção.

	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico
Ração (em pó)		
Proteína Bruta (%)	36	36
Matéria seca (%)	92,57	92,57
Matéria mineral (%)	14,69	14,69
Matéria fibrosa (%)	2,5	2,5
Extrato etéreo (%)	11,0	11,0
Fósforo (%)	1,11	1,11
Simbiótico		
<i>Bacillus toyi</i> (UFC/kg)	-	4,0x10 ¹¹
<i>Bacillus subtilis</i> (UFC/kg)	-	4,0x10 ¹¹
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (UFC/kg)	-	3,5x10 ¹¹
<i>Enterococcus faecium</i> (UFC/kg)	-	3,5x10 ¹¹
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (UFC/kg)	-	3,5x10 ¹¹
<i>Mananoligossacarídeo</i> (g)	-	10,0
Lisina (g)	-	5000
Metionina (mg)	-	2500
Colina (mg)	-	2000
Vitamina C (g)	-	10,0
Dextrose (g/kg)	-	50,0

BFT: tecnologia de bioflocos.

O período experimental foi de 40 dias durante a primavera (outubro a novembro), e os peixes receberam diariamente uma ração em pó (Tabela 1), quatro vezes ao dia (08h00, 10h00, 13h00 e 17h00), na quantidade de 10% da biomassa. No início do experimento foi inoculado 30% do volume total de água de um BFT anteriormente formado. A água deste BFT utilizado para inoculação apresentou as seguintes características da água: 0,32 mg L⁻¹ nitrogênio amoniacal total (TAN), 0,5 mg L⁻¹ de nitrito (NO₂⁻), 0,24 mg L⁻¹ de nitrato (NO₃⁻), 1,04 mg L⁻¹ de ortofosfato (PO₄³⁻), 90,94mg L⁻¹ de alcalinidade de carbonatos (CaCO₃) (CaCO₃) e 34,0 mL L⁻¹ de flocos. Após a inoculação da água do BFT previamente formando nas unidades experimentais foi realizado um manejo visando o crescimento e manutenção da comunidade microbiana. Foi adicionado melão em pó (fonte de carbono) para manutenção da relação carbono-nitrogênio (C:N) em 20:1 conforme recomendação de Avnimelech (2015).

Variáveis de desempenho

Os animais foram pesados individualmente no início do experimento (Balança digital modelo MARTE®, AD2000) e posteriormente foram realizadas biometrias a cada 10 dias de todos

os peixes. Antes da coleta das medidas biométricas, os peixes foram anestesiados com eugenol (Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda.) em concentração de 50 mg L⁻¹ (Kildea et al., 2004). No final do experimento foram avaliadas as seguintes variáveis: peso final (g); comprimento total (medida entre a extremidade anterior da cabeça e o final da nadadeira caudal, em cm); ganho de peso (peso final em g - peso inicial, em g); conversão alimentar aparente (consumo de ração em g/ganho de peso, em g); taxa de crescimento específico [(log natural do peso final em g - log natural do peso inicial em g)/(período experimental em dia) x 100]; e taxa de sobrevivência (número de peixes no final do experimento/total de peixes no início do experimento x 100).

Qualidade da água

Os parâmetros de qualidade de água como a temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg L⁻¹) e pH foram monitorados diariamente duas vezes ao dia (8h00 e 16h00) com o auxílio de multiparâmetro (YSI Professional Plus). O Nitrogênio amoniacal total (TAN), nitrito (mg L⁻¹N-NO₂), nitrato (mg L⁻¹N-NO₃), ortofosfato (mg L⁻¹PO₄) e alcalinidade total (mg L⁻¹CaCO₃) foram mensuradas duas vezes por semana utilizando kit comercial (ALFAKIT). Os sólidos sedimentáveis (volume de flocos em suspensão) foram mensurados duas vezes por semana utilizando um cone Imhoff de 1000 mL por meio de sedimentação de um litro de amostra de água durante 30 minutos, de acordo com metodologia descrita por Eaton et al., (1995).

Tabela 2. Valores médios, desvio padrão (DP), máximos e mínimos de variáveis de qualidade de água durante 40 dias na fase de pós-larvas até alevinos de tilápia-do-Nilo em BFT com simbiótico e sem simbiótico.

Variáveis	BFT sem simbiótico				BFT com simbiótico			
	Média	DP	Max	Min	Média	DP	Max	Min
Temperatura (°C)	27,49	0,41	27,90	26,80	27,52	0,40	27,90	26,80
OD (ml L ⁻¹)	5,57	0,21	5,90	5,20	5,59	0,21	5,90	5,20
pH	7,99	0,34	8,90	7,60	7,89	0,24	8,70	7,60
TAN (ml L ⁻¹)	0,61	0,21	0,85	0,25	0,55	0,18	0,83	0,25
Nitrito (ml L ⁻¹)	0,04	0,04	0,18	0,01	0,02	0,02	0,11	0,01
Nitrato (ml L ⁻¹)	0,48	0,17	0,78	0,22	0,39	0,15	0,64	0,20
Ortofosfato (ml L ⁻¹)	1,02	0,26	1,50	0,75	1,10	0,29	1,50	0,75
Alcalinidade (ml L ⁻¹)	90,10	11,28	99,70	52,00	91,98	6,77	99,70	60,10
Sólidos sedimentáveis (mg/L)	18,40	12,23	38,20	0,28	18,70	13,12	39,05	0,18

BFT: tecnologia de bioflocos. OD: oxigênio dissolvido. TAN: nitrogênio amoniacal total. DP: desvio padrão. Max: máximo. Min: mínimo.

Análise morfométrica e densidade celular do intestino

Foram avaliados 40 peixes no final do experimento, sendo cinco de cada unidade experimental, totalizado 20 peixes de cada tratamento para análise histológica. Os peixes foram eutanasiados por aprofundamento anestésico (em solução de eugenol 70 mg. L⁻¹) e posteriormente, foi realizado a necropsia para análise morfométrica do intestino. Os intestinos foram fracionados em uma porção (intestino anterior) de forma que todas mantivessem mesmo comprimento de 2 cm. Os fragmentos foram fixados em solução de formolína 10% tamponada (pH 7,2) durante 24 horas. Posteriormente, os fragmentos foram transferidos para solução de álcool 70 GL, onde permaneceram até o momento do processamento histológico. Secções histológicas foram preparadas para cortes em Paraplast (Sigma Aldrich®) com espessura de 3 µm em micrótomo rotativo (Zeiss HYRAX M25, Germany). E as secções foram coradas em Hematoxilina e Eosina (H&E), Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Azul de Alcian (AZ). Imagens digitalizadas (n= 5, magnitude 5, 400 e 1000x) de cada secção longitudinal e transversal de cada região e captadas digitalmente em uma câmera Nikon D3100 adaptada (P95-T2 1,6x DSLR, Zeiss) em microscópio ótico de campo claro (Primo Star, Zeiss).

Para a análise histométricas das secções, considerou-se a medida do diâmetro total (µm) nas imagens de magnitude de 5x. A espessura e largura da vilosidade (µm), espessura da camada muscular interna e externa (µm), espessura da camada submucosa (µm) e espessura da camada mucosa (µm) foram mensuradas em cinco conjuntos de vilosidade por secção/região (Figura 1).

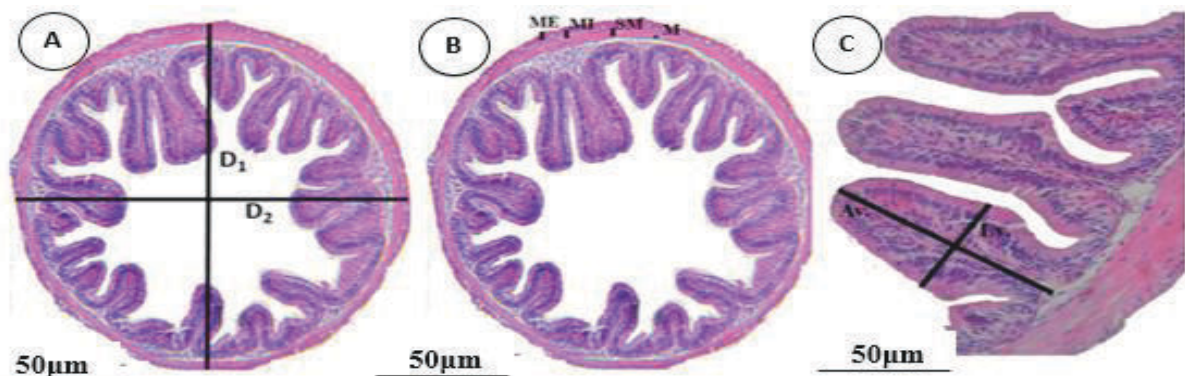


Figura 1. Secções histológicas do intestino alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em tecnologia bioflocos (BFT). Imagem A - As retas indicam as medidas lineares do primeiro diâmetro (D₁) e do segundo diâmetro (D₂). Imagem B - Corte transversal do intestino com respectivas camadas: Camada muscular externa (ME); camada muscular interna (MI); camada submucosa (SM) e camada mucosa (M). (2,5x). Imagem C - As retas indicam as medidas lineares da altura da vilosidade (Av.) e largura da vilosidade (Lv).

A área e o perímetro (μm) do núcleo e do citoplasma dos enterócitos e a área (μm^2) das células caliciforme ($n=50/\text{secção}$) foram mensurados em imagens de 1000x de magnitude. A área nuclear e citoplasmática dos enterócitos foi usada para o cálculo da relação núcleo/citoplasma ($\text{RNCEnt.} = \text{área do núcleo } (\mu\text{m}^2) / \text{área do citoplasma } (\mu\text{m}^2) \times 100$), segundo Andrade et al. (2017). As imagens ($n=5$ por secção/região, 400x de magnitude) foram utilizadas para análise da densidade celular (células/ mm^2). Para isso foram selecionadas aleatoriamente cinco vilosidades em cada secção histológica onde mensurou-se a área (μm^2) total de cada vilosidade para contagem das células enterocíticas, caliciformes, granulocíticas e agranulocíticas (Figura 2). Os valores obtidos foram convertidos mm^2 (Hedrerera et al., 2013).

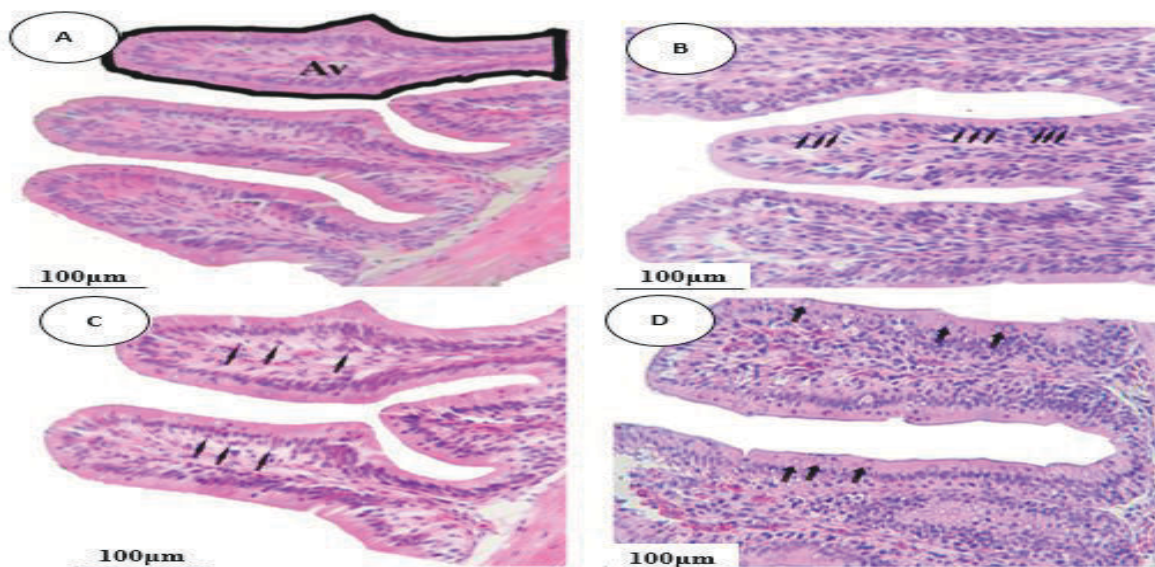


Figura 2. Secções histológicas do intestino dos alevinos tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidos em tecnologia bioflocos (BFT). A imagem A indica a área da vilosidade (Av.). Na imagem B, as setas mostram as células enterócitos presentes no intestino. Os granulocíticas estão representados na imagem C (seta). Na imagem D, as setas indicam as células caliciformes presentes no intestino.

Análise estatística

Os dados de desempenho, hematológicas, histométricos e de densidade celular foram analisados quanto à homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene. Quando as variâncias foram homogêneas, as variáveis dependentes foram submetidas à Análise de Variância com uma variável independente, no nível de significância de 5%. Quando as variâncias foram heterogêneas, as variáveis dependentes foram submetidas à Análise de Variância de Welch. Todas as análises foram executadas utilizando o programa computacional SAS® System versão 9.1 (SAS, 2002).

Resultados

Houve um maior período de alta concentração dos compostos nitrogenados no BFT sem simbiótico comparativamente ao BFT com simbiótico (Figura 3). O volume de sólidos sedimentáveis aumentou constantemente ao longo do experimento de forma semelhante nos dois tratamentos.

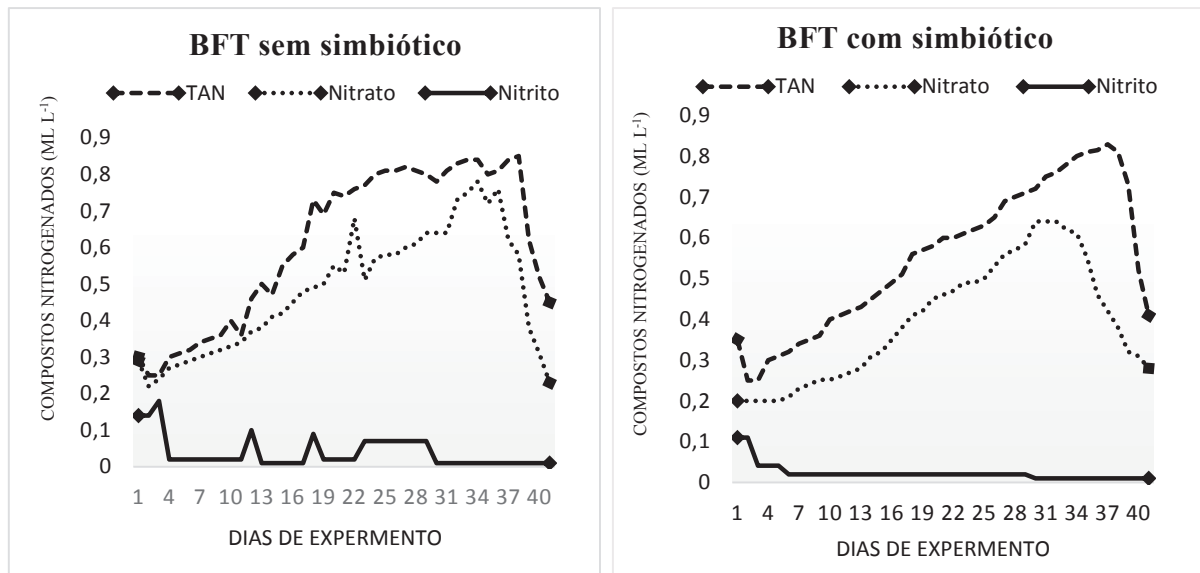


Figura 3. Flutuações de compostos nitrogenados (TAN, nitrito e nitrato), durante 40 dias na fase de pós-larvas até alevino de tilápia-do-Nilo em tecnologia de bioflocos (BFT) com e sem simbiótico.

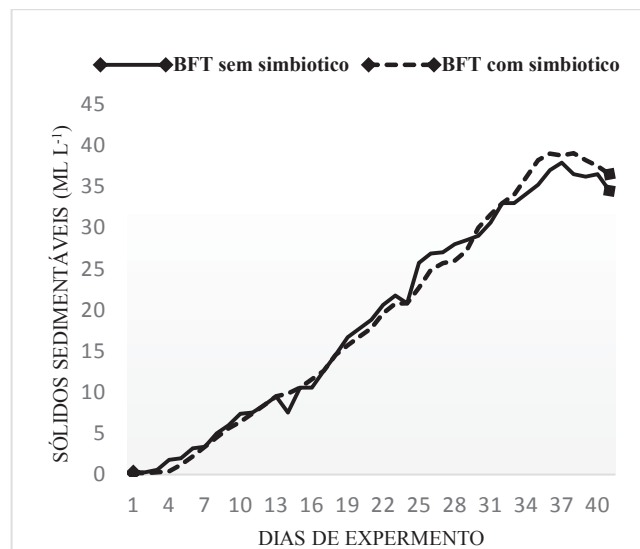


Figura 4. Flutuações de sólidos sedimentáveis (volume de flocos em suspensão), durante 40 dias na fase de pós-larvas até alevino de tilápia-do-Nilo em tecnologia de bioflocos (BFT) com e sem simbiótico.

Desempenho

O peso final, comprimento total, ganho em peso e taxa de crescimento específico foram maiores ($P<0,05$) nos peixes produzidos no BFT com simbiótico. A sobrevivência e conversão alimentar aparente não diferiram estatisticamente nos peixes produzidos no BFT com e sem simbiótico (Tabela 3).

Tabela 3. Desempenho da fase de pós-larvas até alevinos tilápia-do-Nilo produzida durante 40 dias em tecnologia bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico.

Variáveis	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico	p-valor
Peso final (g)	2,38±0,01 ^b	2,66±0,08 ^a	0,0005
Comprimento total (cm)	4,83±0,05 ^b	5,09±0,16 ^a	0,0199
Ganho em peso (g)	2,30±0,01 ^b	2,57±0,08 ^a	0,0005
Conversão alimentar aparente	0,95±0,01 ^a	0,95±0,01 ^a	1,0000
Sobrevivência (%)	93,75±5,44 ^a	96,50±3,11 ^a	0,4138
TCE (%)	8,32±0,04 ^b	8,61±0,10 ^a	0,0019

Médias seguidas por letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($P<0,05$), pela análise de variância. BFT: tecnologia bioflocos. TCE: Taxa de crescimento específico.

Análises morfométricas e de densidade celular

O diâmetro, espessura camada muscular externa, espessura da camada submucosa e espessura da camada mucosa não diferiram estatisticamente nos peixes produzidos no BFT com e sem simbiótico. Por outro lado, a espessura da camada muscular interna foi maior ($P<0,05$) nos peixes produzidos no BFT com simbiótico (Tabela 4).

Tabela 4. Morfometria do intestino de tilápia-do-Nilo produzidos durante 40 dias da fase de pós-larvas até alevinos em tecnologia bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico.

Variáveis	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico	p-valor
Diâmetro (μm)	1204,92±193,56 ^a	1154,44±228,71 ^a	0,7162
Espessura da camada muscular externa (μm)	18,57±3,94 ^a	23,7±4,71 ^a	0,1003
Espessura da camada muscular interna (μm)	20,9±2,74 ^b	29,8±5,77 ^a	0,0146
Espessura da camada submucosa (μm)	39,99±15,28 ^a	40,28±4,25 ^a	0,9956
Espessura da camada mucosa (μm)	17,90±1,55 ^a	19,05±2,07 ^a	0,3500

Médias seguidas por letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($P<0,05$), pela análise de variância. BFT: tecnologia bioflocos.

A largura da vilosidade do intestino foi maior ($P<0,05$) nos peixes produzidos na BFT sem simbiótico durante 40 dias experimentais. A área da vilosidade e altura da vilosidade não diferiram estatisticamente nos peixes produzidos no BFT com e sem simbiótico (Tabela 5).

Tabela 5. Morfometria da vilosidade do intestino das pós-larvas de tilápia-do-Nilo no início do experimento e após 40 dias de produção em tecnologia bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico.

Medidas morfométricas	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico	p-valor
Área da vilosidade (μm^2)	17081,56±2181,22 ^a	20256,02±2459,59 ^a	0,0629
Altura da vilosidade (μm)	189,15±27,13 ^a	220,42±31,34 ^a	0,2060
Largura da vilosidade (μm)	118.630±8.31 ^a	90,95±11,80 ^b	0,0027

Médias seguidas por letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($P<0,05$), pela análise de variância. BFT: tecnologia bioflocos.

A densidade de calciformes do intestino foi maior ($P<0,05$) nos peixes produzidos no BFT com simbiótico em relação aos peixes produzidos em BFT sem simbiótico. Por outro lado, a densidade de enterócitos, granulócitos e agranulócitos não diferiram estatisticamente nos peixes produzidos BFT com e sem simbiótico (Tabela 6).

Tabela 6. Densidade celular do intestino de tilápia-do-Nilo produzidos durante 40 dias da fase de pós-larvas até alevinos em tecnologia bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico.

	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico	p-valor
Enterócitos (célula/ mm^2)	4158,11±543,43 ^a	4272,16±667,23 ^a	0,7745
Granulócitos (célula/ mm^2)	847,10±133,67 ^a	938,60±112,87 ^a	0,2759
Agranulócitos (célula/ mm^2)	3224,39±330,21 ^a	3120,57±177,69 ^a	0,5531
Calciforme (célula/ mm^2)	683,33± 74,1 ^b	1028,32±229,98 ^a	0,0128

Médias seguidas por letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($P<0,05$), pela análise de variância. BFT: tecnologia bioflocos.

Discussão

Os valores de qualidade de água (temperatura, oxigênio dissolvido e pH) mantiveram-se estáveis e dentro dos níveis aceitáveis para a espécie (El-Sayed, 2006). Os resultados foram semelhantes a outros estudos com tilápias-de-Nilo em BFT (Azim e Little, 2008; Ahmad et al., 2016; Brol et al., 2017; Deng et al., 2018; Durigon et al., 2019). Em relação a alguns compostos nitrogenados, amônia para BFT sem e com simbiótico respectivamente, ficaram abaixo da concentração considerada letal para a espécie (Colt, 2006; Karasu Benli, 2005).

A produção de tilápia-do-Nilo na fase de pós-larva até alevino foi adequada, tendo em vista que no sistema de produção em água clara (sem BFT) os resultados de desempenho e sobrevivência são menos expressivos, como pode-se observar nos trabalhos de Vilani et al., (2016); Samocha et

al., (2017); Brol et al., (2017). O trabalho de Wambach, (2013) corroboram esta afirmação, tendo em vista que os autores encontraram melhor desempenho de tilápia-do-Nilo na produção de alevinos quando produzidos em BFT.

A produção de alevinos de tilápia-do-Nilo em tecnologia de bioflocos com a adição de simbiótico (*Bacillus toyi*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* e *Mananoligosacarídeo*) na água melhorou o desempenho, propiciando alevinos maiores comparativamente aos alevinos produzidos em BFT sem simbiótico. Embora não tenha ocorrido alteração na sobrevivência, produção de alevinos maiores pode refletir em um melhor desempenho e sobrevivência na fase de crescimento destes peixes.

O peso final obtido com os alevinos de tilápia-do-Nilo em BFT com simbiótico foi superior comparativamente ao observado Albuquerque et al. (2013) que observaram menor peso final ($0,21 \pm 0,00$ e $0,28 \pm 0,01$ g) e conversão alimentar aparente ($1,01 \pm 0,08$ e $0,93 \pm 0,08$ g) ao testarem o probiótico contendo *Bacillus cereus* e o *Bacillus subtilis* C-3102, respectivamente em tilápia-do-Nilo durante a reversão sexual. A melhora no desempenho da tilápia-do-Nilo com simbiótico foi semelhante ao obtido por Lara-Flores et al. (2003) e Jatobá e Mouriño (2015) que evidenciaram que a incorporação de probiótico na água clara proporcionou maior ganho de peso. Carvalho et al. (2011) observaram maior ganho de peso com a incorporação de simbiótico na água. Evidencia-se que embora a BFT proporcione melhora no desempenho na fase de pós-larvas até alevino, a incorporação de simbiótico na água proporciona maiores incrementos no desempenho.

Da mesma forma, a incorporação de prebiótico, probiótico e simbiótico na ração têm mostrado melhora no desempenho das tilápia-de-Nilo, tais como encontrados por Abu-Elala et al., (2013); Agung et al., (2015); Adeoye et al., (2016); Huynh et al., (2017). Todavia, esta prática pode modificar a composição nutricional da ração, tendo em vista que geralmente a inclusão do aditivo ocorre posteriormente a extrusão da ração mediante a adição de óleo. Neste contexto, a incorporação do aditivo na água é mais adequada por não interferir na composição da ração. Além disso, no BFT os aditivos podem atuar no desenvolvimento dos microrganismos dos flocos melhorando o sistema de produção.

A melhora no desempenho da tilápia-do-Nilo na fase inicial em BFT pode ser justificada pela alta disponibilidade de microrganismos presente no sistema. A BFT caracteriza-se pela diversidade de microrganismos (Avnimelech, 2007; Wei et al., 2016; Emerenciano et al., 2017), que podem ser aproveitados como alimento pelos peixes (Crab et al., 2012), sendo ótima fonte de

proteína bruta, podendo atingir alta porcentagem de proteína bruta, que em média é de 31,9% (Wasiolesky et al., 2006; Little, 2008; Emerenciano et al., 2011; Emerenciano et al., 2013), mas pode atingir 50% (Azim e Little, 2008; Rocha et al., 2012). Outro benefício deste sistema é que estes microrganismos podem melhorar a qualidade da água, mas que no tempo do referido experimento não foi evidenciado alterações na qualidade de água.

Praticamente não houve alteração na morfometria do intestino dos alevinos produzidos em BFT com e sem simbiótico. Houve aumento da espessura da camada muscular interna do intestino dos peixes produzidos em BFT com simbiótico, que talvez seja devido a distintos microrganismos presentes no floco (Gao et al., 2014), tendo em vista que a espessura da camada muscular nos peixes está associada com a dieta (Diaz et al., 2006).

Estes resultados se contrapõem ao observado com a adição de simbiótico na ração, em que se espera alterações na morfometria do intestino de alevinos de tilápia-do-Nilo, como se pode observar nos trabalhos de Cerezuela et al., (2011), Ringø et al., (2014), Hassaan et al., (2015) e Huynh et al., (2017) em água clara e de Ozel et al., (2018) e Gao et al., (2014) em BFT.

A morfometria das vilosidades do intestino dos peixes produzidos em BFT com simbiótico não aumentaram (inclusive houve diminuição da largura), corroborando que a assimilação do simbiótico pelo peixe provavelmente foi dificultada por ter sido adicionada na água. O efeito de aditivo é maior quando os peixes são submetidos a alimentação com incorporação na ração, como se pode observar nos trabalhos com probiótico de Aly et al., (2008); Pirarat et al., (2011) e Mello et al., (2013) e com simbiótico de Abu-Elala et al., (2013); Adeoye et al., (2016) e Galagarza et al., (2018), os quais observaram alterações na morfologia intestinal. Outro fato a se considerar é o tempo experimental, pois respostas positivas quanto ao morfometria e as células intestinais de tilápia-do-Nilo suplementadas com aditivos prebióticos, probióticos e simbióticos só são efetivas após 120 dias de experimento (Carvalho et al., 2011).

Embora a concentração de enterócitos, granulócitos e agranulócitos não tenham se alterado nos peixes produzidos em BFT com simbiótico, a concentração das células caliciformes foi quase o dobro da concentração observada nos peixes produzidos em BFT sem simbiótico. Este resultado evidencia que este aditivo aumenta a quantidade de células caliciformes, indicando que a utilização de probiótico, probiótico e simbiótico na ração em tilápia-de-Nilo na fase inicial de produção aumentaram a concentração de células caliciformes, assim como também de enterócitos (Aly et

al., 2008; Pirarat et al., 2011; Mello et al., 2013; Abu-Elala et al., 2013; Nakandakare et al., 2013; Silva et al., 2015; Adeoye et al., 2016 e Galagarza et al., 2018).

Na BFT há um rico ambiente microbiano que pode ter ação imune benéfica a saúde dos peixes (Ahmad et al., 2017). O simbiótico estimula seletivamente o crescimento e metabolismo de bactérias promotoras da saúde, melhorando assim o bem-estar animal (Gibson e Roberfroid, 1995; Cerezuela et al., 2011; Ringø et al., 2014). Este aditivo altera em número e diversidade a comunidade bacteriana intestinal (Hassaan et al., 2015; Huynh et al., 2017). Além disso, a utilização de simbiótico em BFT afeta a comunidade de microrganismos presentes nos flocos, melhorando o desempenho dos peixes, mas sem grandes modificações na morfometria e na concentração de células do intestino, conforme observado no presente trabalho.

Conclusão

A utilização de simbiótico em BFT para produção de alevinos de tilápia-do-Nilo melhora o desempenho e a concentração de células caliciformes.

Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e o Ministério de Ciência e Tecnologia, Ensino Superior e Técnico-Profissional de Moçambique (MCTESTP) por apoiar este projeto.

Referências

- Abu-Elala, N.; Marzouk, M.; Moustafa, M. 2013. Use of different *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 1, 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.001>.
- Albuquerque, D.M.; Marengoni, N.G.; Boscolo, W.R.; Ribeiro, R.P.; Mahl, I.; Moura, M.C. 2013. Probióticos em dietas para tilápia do Nilo durante a reversão sexual. *Ciência Rural*. 43(8): 1503–1508, <https://pdfs.semanticscholar.org/f876/08a7f0a2c2c220e6a5-7038e7646b8-d7aedf1.pdf>.
- Adeoye, A. A.; Yomla, R.; Jaramillo-Torres, A.; Rodiles, A.; Merrifield, D. L.; Davies, S. J. 2016. Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome. *Aquaculture*. 463, 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.028>.
- Agung, L. A; Widanarni, I; Yuhana M. 2015. Application of Micro- Encapsulated Probiotic *Bacillus* NP5 and Prebiotic Mannan Oligosaccharide (MOS) to Prevent Streptococcosis on Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Research Journal of Microbiology*. 10 (12): 571-581. <https://scialert.net/abstract/?doi=jm.2015.571.581>.

- Ahmad, I. Rani, A. M. B.; Verma, A. K.; Maqsood, M. 2017. Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. *Aquaculture*. 1215-1226. <https://www.researchgate.net/publication/312292781>.
- Aly, S. M.; Ahmed, Y.A.; Ghareeb A. A.; Mohamed, M. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish & Shellfish Immunology*. 25, 128-136. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.03.013>.
- Andrade, S. R.; Ruoff, A. B.; Piccoli, T.; Schmitt, M. D.; Ferreira, A.; Xavier, A. C. A. 2017. O Estudo de caso como método de pesquisa em enfermagem: uma revisão integrativa. 26(4): 1-12. <http://www.scielo.br/pdf/tce/v26n4/0104-0707-tce-26-04-e5360016.pdf>.
- Avnimelech, Y. 2009. *Biofloc Technology- A Practical Guide Book*. Louisiana: The 425 World Aquaculture Society, 175.
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*. 264, 140-147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.06.036>.
- Avnimelech, Y. 2015. *Biofloc technology - A practical guidebook*. 3. The World Aquaculture Society. Baton Rouge. Louisiana, EU. *Aquaculture*. 176, 227-235. <https://www.researchgate.net/publication/308052605>.
- Azim, M.E.; Little, D.C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Aquaculture*. 283, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>.
- Brito, J. M.; Ferreira, A. H. C.; Júnior, H. A. S.; Oliveira, A. P. A.; Santos, C. H. L.; Oliveira, L. T. S. 2019. Desempenho zootécnico de juvenis de tilápias do Nilo (*oreochromis niloticus*) alimentados com cepas probióticas e submetidos a desafio sanitário. *Ciência Animal Brasileira*. 20, 1-9. <http://www.scielo.br/pdf/cab/v20/1809-6891-cab-20-e37348.pdf>.
- Brol, J.; Pinho, S.M.; Sgnaulin, T.; Pereira, K. da R.; Thomas, M.C.; De Mello, G.L.; Miranda-Baeza, A.; Emerenciano, M.G.C. 2017. Tecnologia de bioflocos (BFT) no desempenho zootécnico de tilápias: efeito da linhagem e densidades de estocagem. *Arch. Zootec.* 66 (254): 229-235. <https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/article/view/2326>.
- Carvalho JV; Lira, AD; Costa, DSP; Moreira, ELT; Pinto, LFB; Abreu, RD; Albinati, RCB. 2011. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* e mananoligossacarídeo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 12(1):176-187. <http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/Article/1887>.
- Crab, R.; Defoirdt, T.; Bossier, P.; Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*. 356-357, 351-356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>.
- De Schryver, P, R.; Crab, T.; Defoirdt, N.; Boon, W.; Verstraete. 2008. The basics of bio-flocs technology: The benefit for aquaculture. *Aquaculture*, v.277, 125-137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>.
- Durigon, E.G.; Lazzari, R.; Uczay, J.; Lopes, D. L. A.; Jerônimo, G. T.; Sgnaulin, T.; Emerenciano, M. G. C. 2019. Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in brackish water. 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.07.001>.
- Eaton, A.D.; Cleserci, L.S. and Greenberg, A.E. 1995. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 10th ed. Amer. Pub. Health Assoc. Washington, D.C.
- El-Sayed, E.M. 2006. *Tilapia culture*. CABI publishing. Cambridge. Massachusetts, USA. 275.

- Emerenciano, M. G. C.; Martínez-Córdova, L. R.; Martínez-Porchas, M.; Miranda- Baeza, A. 2017. Biofloc Technology (BFT): A Tool for water Quality Management in Aquaculture. World's largest Science, Technology & Medicine. 92-10. <https://www.intechopen.com/books/water-quality/biofloc-technology-bft-a-tool-for-water-quality-management-in-aquaculture>. Data de acesso: 28/9/2019.
- Emerenciano, M.; Cuzon, G.; Paredes, A. and Gaxiola, G. 2013. Evaluation of biofloc technology in pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* culture: growth performance, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of biofloc. *Aquaculture Int.* 21, 1381-1394. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10499-013-9640-y.pdf>.
- FAO- Food and Agriculture Organization (2018). The state of World Fisheries and Agriculture – Meeting the sustainable development goals. <http://www.fao.org/3/I9540EN/i9540>
- Fóes, G. K.; Gaona, C. A. P.; Poersch, L. H. 2012. Cultivo em bioflocos (BFT) é eficaz na produção intensiva de camarões. *Seguimento de Aquicultura*.11, 28-32. <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va11>.
- Gao, Y.; Yang, H.J.; Liu, Y. J.; Chen, S.J.; Guo, D. Q.; Yu, Y.Y.; Tian, L. X. 2014. Effects of graded levels of threonine on growth performance, biochemical parameters and intestine morphology of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*.113-119. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.043>.
- Gibson, G.R.; Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition.* 125, 1401-1412. <https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401>.
- Hassaan, M. S.; Soltan, M. A.; Ghonemy, M. M. R. 2014. Effect of synbiotics between *Bacillus licheniformis* and yeast extract on growth, hematological and biochemical indices of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Egyptian Journal of Aquatic Research.* 40, 199-208. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2014.04.001>.
- Hedrera, M.; Galdames, J.; Gimenez-Reyes, M.; Reyes, A.; Avandaño-Herrera, R.; Romero J. 2013. Soybean meal induces intestinal inflammation in zebrafish larvae. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0069983>.
- Huynh, T. G.; Shiu Y. L.; Nguyen, T. P.; Truong, Q. P.; Chen, J. C.; LIU, C. H. (2017). Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 64, p. 367-382. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.035>.
- IBGE, 2018. Pesquisa Pecuária Municipal: Produção da aquicultura. Disponível a partir de: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3940&z=t&o=21>, Data de acesso: 28 de outubro de 2019.
- Jatobá A; Mourinho, JLP. 2015. Efeito do *Lactobacillus plantarum* no trato intestinal de alevinos de *Oreochromis niloticus*. *Ciência Animal Brasileira.* 16, (1): 45-53. <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/27789>.
- Kildea, M.A.; Allan, G.L.; Kearney, R.E. 2004. Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and Aquí-STM from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture.* 232, 265-277. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00483-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00483-6).
- Kubitza, F. 2011. Tilápia: Tecnologia e planejamento na produção comercial, Jundiaí: Acqua Supre, 316. <http://acquaimagem.com.br/website/tilapia-tecnologia-e-planejamento-na-producao-comercial-2a-edicao>. Data de acesso: 19/9/2019.
- Lara-Flores, M.; Olvera-Novoa, M.A.; Guzmán-Méndez, B.E.; López-Madrid W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast

- Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 216, 193-201. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00277-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00277-6).
- Mello, H. D.; J. R. E.; Moraes, I. G.; Niza, F. R. D.; Moraes, R. O. A.; Ozório, M. T.; Shimada, J. R.; Filho, E.; Claudiano, G. S. 2013. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33, 724-730. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013000600006>.
- Nakandakare, I.B.; Iwashita, M.K.P.; Dias, D.C.; Tachibana, L.; Ranzanipaiva, M.J.T.; Romagosa, E. 2013. Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilápias-do-nilo: parâmetros hematológicos, imunológicos e microbiológicos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 39 (2):121-135. https://www.pesca.sp.gov.br/39_2_121-135.pdf.
- Ozel, O. T.; Çakmak, E.; Coşkun, İ.; Çankırılıgil, E. C. 2018. Evaluation of growth performance and intestine villi morphology of black sea trout (*Salmo labrax* Pallas, 1814) fed with different protein levels containing diets. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.125- 130. <https://www.rese-archgate.net/publication/325897497>.
- Pérez-Fuentes, J. A.; Hernández-Vergara, M. P.; Pérez-Rostro, C. I.; Fogel, I. 2016. C: N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture*, v. 452, n. 1, p. 247-251. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.010>.
- Pirarat, N.; Pinpimai, K.; Endo, M.; Katagiri, T.; Ponpornpisit, A.; Chansue, N. 2011. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Research in Veterinary Science* 91(3): 92-97. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.20-11.02.014>.
- Ringø, E.; Olsen, R.E.; Jensen, I.; Romero, J.; Lauzon, H.L. 2014. Application of vaccines and dietary supplements in aquaculture: possibilities and challenges. *Fish Biology and Fisheries*. 24, 1005-1032. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11160-014-9361-y.pdf>.
- Samocha, T. M.; Prangnell, D. I.; Hanson, T. R.; Treece, G. D.; Morris, T. C.; Castro, L. F.; Staresinic, N. 2017. Design and Operation of Super Intensive, Biofloc Dominated Systems for Indoor Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* The Texas A & M Agri Life Research Experience. Louisiana: The World Aquaculture Society. 368. <http://www.was.org/Shopping/desgin-and-operation-of-superintensive-biofloc-dominated-systems-for-the-production-of-pacific-white-shrimp>.
- Vilani, F. G.; Schweitzer, R.; Arante, R. F.; Vieira, F. N.; Santo, C. M. E.; Seiffert, W. Q. 2016. Strategies for water preparation in a biofloc system: Effects of carbon source and fertilization dose on water quality and shrimp performance. *Aquacultural Engineering*, Oxford, 74 (1): 70-75. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.06.002>.
- Wambach, X.F. 2013. Influência de diferentes densidades de estocagem no desempenho produtivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758), cultivada com tecnologia de bioflocos. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Pesca e Aquicultura. Recife. 78f.
- Wei Y. F.; Liao, S.-A.; Wang, A. 2016. The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. *Aquaculture*. 465, 88-93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.040>.

SIMBIÓTICO EM TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS (BFT) MELHORA O DESEMPENHO E AS CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DE JUVENIS DE TILÁPIA-DO-NILO

Resumo: O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o desempenho, parâmetros hematológicos e morfometria intestinal de tilápia-do-Nilo produzida em tecnologia de bioflocos (BFT) com a utilização de simbiótico na água. Foram estocados 80 juvenis (peso entre 30 g e 35 g) em oito tanques de 100 litros (10 peixes/caixa). Os peixes foram produzidos com a tecnologia de bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico. O simbiótico foi adicionado diretamente à água semanalmente na dosagem de 0,2 mg L⁻¹ (recomendação comercial do produto). O experimento foi inteiramente casualizado com dois tratamentos (BFT com simbiótico e BFT sem simbiótico) e quatro repetições, totalizando oito unidades experimentais. O período experimental foi de 40 dias durante os meses de primavera (outubro a novembro). O peso final, ganho em peso e taxa de crescimento específico foram maiores (P<0,05) nos peixes produzidos em BFT com simbiótico (77,28±0,61g; 46,79± 0,64g; 2,33±0,03%) em relação as peixes produzidos em BFT sem simbiótico (73,31±0,73g; 42,54±0,77g; 2,17±0,04%). A conversão alimentar aparente foi maior nos peixes produzidos em BFT sem simbiótico (1,02±0,01) em relação ao BFT com simbiótico (2,33±0,03). De forma geral, os parâmetros hematológicos foram maiores nos peixes produzidos em BFT com simbiótico, mas não foram observadas grandes diferenças morfométricas do intestino. Conclui-se que a inclusão de simbiótico em BFT melhora o desempenho e os parâmetros hematológicos da tilápia-do-Nilo.

- **Palavras-chave:** hematologia, morfometria do intestino, *Oreochromis niloticus*.

BIOFLOCK TECHNOLOGY (BFT) IMPROVEMENTS PERFORMANCE AND HEMATOLOGICAL CHARACTERISTICS OF NILE TILAPIA YOUTH

Abstract: The study was conducted to evaluate the performance, hematological parameters and intestinal morphometry of Nile tilapia produced in biofloc technology (BFT) using symbiotic in water. Eighty juveniles (weight between 30 g and 35 g) were stocked in eight 100 liter tanks (10 fish / box). The fish were produced using symbiotic and non-symbiotic biofloc technology (BFT). The symbiotic was added directly to the water weekly at a dosage of 0.2 mg L⁻¹ (commercial recommendation of the product). The experiment was completely randomized with two treatments (BFT with symbiotic and BFT without symbiotic) and four replications, totaling eight experimental units. The experimental period was 40 days during the spring months (October to

November). Final weight, weight gain and specific growth rate were higher ($P < 0.05$) in fish produced in symbiotic BFT ($77.28 \pm 0.61\text{g}$; $46.79 \pm 0.64\text{g}$; $2.33 \pm 0.03\%$) compared to fish produced in BFT without symbiotic ($73.31 \pm 0.73\text{g}$; $42.54 \pm 0.77\text{g}$; $2.17 \pm 0.04\%$). Apparent feed conversion was higher in fish produced in BFT without symbiotic (1.02 ± 0.01) compared to BFT with symbiotic (2.33 ± 0.03). In general, hematological parameters were higher in fish produced in symbiotic BFT, but no large intestinal morphometric differences were observed. It was concluded that the inclusion of symbiotic in BFT improves the performance and hematological parameters of Nile tilapia. Keywords: hematology, intestinal morphometry, *Oreochromis niloticus*.

Introdução

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) representou nos últimos anos a quarta espécie aquícola mais produzida no mundo, atrás apenas de três espécies de carpas (FAO, 2018), e a espécie aquícola mais produzida no Brasil (IBGE, 2018). Fatores como hábito alimentar onívoro, capacidade de filtração de microrganismos na água (Dempster et al., 1995) e bons índices produtivos em diferentes sistemas de produção (Samocha et al., 2017) contribuíram para a tilápia-do-Nilo representar uma das espécies aquícolas de maior importância no mundo.

A BFT merece destaque entre as novas tecnologias em estudo na produção de organismos aquáticos, proporcionando uma aquicultura moderna e ambientalmente responsável (Brol et al., 2017; Emerenciano et al., 2017; Durigon et al., 2019; Durigon et al., 2019). O princípio da BFT está na transformação dos compostos nitrogenados dissolvidos na água, os quais são tóxicos em concentrações elevadas, através dos microrganismos presentes nos flocos, mediante a adição de fontes de carbono no sistema de cultivo (De Schryver et al., 2008; Fóes et al., 2012; Pérez-Fuentes et al., 2016; Vilani et al., 2016; Emerenciano et al., 2017).

A presença de agregado de organismos (biomassa microbiana) presentes na BFT proporciona vários benefícios à produção de peixes para a melhoria do desempenho, com destaque na melhoria do ganho de peso e da conversão alimentar (Bossier e Ekasary, 2017; Emerenciano et al., 2017), na melhoria da saúde do animal, pela competição biológica com patógenos (Pérez-Fuentes et al., 2016; Vilani et al., 2016), no aumento do controle e biossegurança dos cultivos e na manutenção da qualidade da água (Crab et al., 2012). A tilápia-do-Nilo tem apresentado bons resultados no BFT (Vilani et al., 2016; Brol et al., 2017; Emerenciano et al., 2017).

A utilização de aditivos na produção de peixes, tais como prebióticos, probióticos e simbiótico vêm ganhando espaço devido aos efeitos benéficos para o hospedeiro no combate às doenças e melhoria do desempenho (Abu-Elala et al., 2013; Huynh et al., 2017). Os simbióticos constituem uma combinação de prebióticos e probióticos que afeta beneficentemente o hospedeiro melhorando a sobrevivência e implantação de dieta microbiana viva no trato gastrointestinal, estimulando seletivamente o crescimento e ativando o metabolismo de bactérias promotoras da saúde, melhorando assim o bem-estar animal (Gibson e Roberfroid, 1995; Cerezuela et al., 2011; Ringø et al., 2014). Estes aditivos alteram as comunidades bacterianas intestinais e aumentam a colonização (Hassaan et al., 2015; Huynh et al., 2017). Além do efeito no peixe, estes aditivos podem melhorar a qualidade da água, principalmente em sistemas fechados como a BFT, devido aos microrganismos presentes neste sistema (Brol et al., 2017; Emerenciano et al., 2017).

Alguns estudos com tilápia-do-Nilo com a inclusão de simbióticos na dieta demonstraram melhora do desempenho zootécnico (Selim e Reda, 2015; Adeoye et al., 2016), na morfologia intestinal (Aly et al., 2008; Abu-Elala et al., 2013; Hassaan et al., 2015; Hai, 2015; Adeoye et al., 2016), e nos parâmetros hematológicos (Hassaan et al., 2014; Azevedo et al., 2015; Agung et al., 2015). A utilização de prebiótico, probióticos ou simbiótico na água do BFT em vez da incorporação na ração pode ser uma alternativa interessante para promover melhora na água com o desenvolvimento dos microrganismos proporcionando maior estabilidade no sistema e beneficiando os peixes (Crab 2012). No entanto, faltam informações científicas quanto a utilização de simbiótico na qualidade da água e dos flocos no desempenho, parâmetros hematológicos e morfometria intestinal de tilápia-do-Nilo na fase inicial de produção em BFT. O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o desempenho zootécnico, hematologia e a morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo produzidos em tecnologia de bioflocos com a utilização de simbiótico.

Material e Métodos

Local e peixes

O experimento foi realizado no Laboratório da Estação Experimental da Piscicultura (20°30'04,6" S, 54°36'37,8" W) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMS (Protocolo nº: 904/2017).

Foram utilizados peixes jovens de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) da variedade GIFT (*Genetically Improved Farmed Tilapia*) da sétima geração de seleção e melhoramento genético. Estes peixes foram obtidos através de manejo reprodutivo em hapas (15 m³), onde foram alocados três machos e seis fêmeas na proporção de 2:1 (Kubitza 2011; Yoshida et al. 2015) e, posteriormente, os juvenis foram capturados e alocados nas unidades experimentais.

Unidade e desenho experimental

Os juvenis capturados das hapas ficaram 15 dias em aclimatação em tanques de 1540 litros, com renovação diária de 25% e aeração constante. Em seguida os juvenis com peso mínimo de 30 g e máximo de 35 g foram submetidos a um jejum de 24 horas. Posteriormente, foi realizado biometria inicial e distribuídos 80 juvenis em oito caixas plásticas circulares de 100 litros (10 peixes/caixa) instaladas no laboratório. O número de peixes por unidade experimental foi estabelecido considerando uma biomassa de 4 kg de peixe/m³ a qual é considerada satisfatória para produção de peixes em BFT.

Os peixes foram produzidos em tecnologia de bioflocos (BFT) com simbiótico e sem simbiótico. O simbiótico, composto por bactérias prebióticos e probióticos (Tabela 1), foi adicionado diretamente na água semanalmente na dosagem de 0,2 mg L⁻¹ (recomendação comercial do produto). O experimento foi inteiramente casualizado com dois tratamentos (BFT com simbiótico e BFT sem simbiótico) e quatro repetições, totalizando oito unidades experimentais. O período experimental foi de 40 dias durante os meses de primavera (outubro a novembro), e os peixes receberam diariamente uma ração extrusada de 1-2 mm (Tabela 1), quatro vezes ao dia (08h00, 10h00, 13h00 e 17h00), na quantidade de 6% da biomassa.

Tabela 1. Composição nutricional da ração e composição do simbiótico fornecidas aos juvenis de tilápia-do-Nilo em BFT durante 40 dias de produção.

	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico
Ração (1 a 2mm)		
Proteína Bruta (%)	36	36
Matéria seca (%)	92,57	92,57
Matéria mineral (%)	14,69	14,69
Matéria fibrosa (%)	2,5	2,5
Extrato etéreo (%)	11,0	11,0
Fósforo (%)	1,11	1,11
Simbiótico		
<i>Bacillus toyi</i> (UFC/kg)	-	4,0x10 ¹¹
<i>Bacillus subtilis</i> (UFC/kg)	-	4,0x10 ¹¹
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (UFC/kg)	-	3,5x10 ¹¹

<i>Enterococcus faecium</i> (UFC/kg)	-	3,5x10 ¹¹
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (UFC/kg)	-	3,5x10 ¹¹
Mananoligossacarídeo (g)	-	10,0
Lisina (g)	-	5000
Metionina (mg)	-	2500
Colina (mg)	-	2000
Vitamina C (g)	-	10,0
Dextrose (g/kg)	-	50,0

BFT: tecnologia de bioflocos.

No início do experimento foi inoculado 30% do volume total de água de um BFT anteriormente formado (composição dos sólidos sedimentáveis: 67,0% de matéria seca; 37,3% de proteína bruta; 40,0% de fibra em detergente neutro; 8,7% de fibra em detergente ácido; 11,5% de material mineral; 1,1% de extrato etéreo e 1,6% de fósforo) em cada unidade experimental (100 L). A água deste BFT utilizado para inoculação apresentou as seguintes características da água: 0,32 mg L⁻¹ de nitrogênio amoniacal total (TAN), 0,5 mg L⁻¹ de nitrito (NO₂⁻), 0,24 mg L⁻¹ de nitrato (NO₃⁻), 1,04 mg L⁻¹ de ortofosfato (PO₄³⁻), 91,94mg L⁻¹ de alcalinidade de carbonatos (CaCO₃) e 34,0 mg L⁻¹ de flocos. Após a inoculação da água do BFT previamente formado nas unidades experimentais foi realizado um manejo visando o crescimento e manutenção da comunidade microbiana. Para isso foi adicionado melão em pó (fonte de carbono) para manutenção da relação carbono-nitrogênio (C:N) em 20:1 conforme recomendação de Avnimelech (2015).

Qualidade da água

Os parâmetros de qualidade de água como a temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg L⁻¹) e pH, foram monitorados diariamente em todas as unidades experimentais duas vezes ao dia (8h00 e 16h00) com o auxílio de multiparâmetro (YSI Professional Plus). O nitrogênio amoniacal total (TAN), nitrito (mg L⁻¹N-NO₂), nitrato (mg L⁻¹N-NO₃), ortofosfato (mg L⁻¹PO₄) e alcalinidade total (mg L⁻¹CaCO₃) foram mensuradas duas vezes por semana utilizando kit comercial (ALFAKIT). Os sólidos sedimentáveis (volume de bioflocos em suspensão) também foram mensurados duas vezes por semana utilizando um cone Imhoff de 1000 mL por meio de sedimentação de um litro de amostra de água durante 30 minutos, de acordo com a metodologia descrita por Eaton et al. (1995) e adaptada por Avnimelech (2015). O desenvolvimento de sólidos sedimentáveis, apresentou uma oscilação, ao longo de período experimental, chegando alcançar um pico de 39,02 ml/L⁻¹ nas últimas duas semanas do período experimental. Para o contorno houve a necessário

acionar o processo de decantação para manter o nível aceitável entre 20 e 30 ml/ L⁻¹ para o cultivo de tilápias em tecnologia de BFT (Avnimelech, 2007).

Tabela 2. Valores médios, desvio padrão (DP), máximos e mínimos de variáveis de qualidade de água durante 40 dias de produção de juvenis de tilápia-do-Nilo em BFT com simbiótico e sem simbiótico.

Variáveis	BFT sem simbiótico				BFT com simbiótico			
	Média	DP	Max	Min	Média	DP	Max	Min
Temperatura (°C)	27,49	0,41	27,90	26,80	27,52	0,40	27,90	26,80
OD (ml L ⁻¹)	5,57	0,21	5,90	5,20	5,59	0,21	5,90	5,20
pH	7,99	0,34	8,90	7,60	7,89	0,24	8,70	7,60
TAN (ml L ⁻¹)	0,65	0,26	1,08	0,25	0,56	0,20	1,02	0,25
Nitrito (ml L ⁻¹)	0,05	0,06	0,30	0,01	0,03	0,15	0,68	0,20
Nitrato (ml L ⁻¹)	0,49	0,18	0,96	0,22	0,30	0,16	0,50	0,10
Ortofosfato (ml L ⁻¹)	1,02	0,26	1,50	0,75	1,10	0,29	1,50	0,75
Alcalinidade (ml L ⁻¹)	90,10	11,28	99,70	52,00	91,98	6,77	99,70	60,10
Sólidos sedimentáveis (mL)	19,02	13,05	39,05	0,28	18,99	13,42	39,05	0,18

BFT: tecnologia de bioflocos. OD: oxigênio dissolvido. TAN: nitrogênio amoniacal total. DP: desvio padrão. Max: máximos. Min: mínimos.

Variáveis de desempenho

Os peixes foram pesados individualmente no início do experimento (Balança digital modelo MARTE®, AD2000) e posteriormente foram realizadas biometrias a cada 10 dias de todos os peixes. Antes da coleta das medidas biométricas, os peixes foram anestesiados com eugenol (Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda.) em concentração de 50 mg L⁻¹ (Kildea et al., 2004). No final do experimento foram avaliadas as seguintes variáveis: peso final (g); comprimento total (medida entre a extremidade anterior da cabeça e o final da nadadeira caudal, em cm); ganho em peso (peso final em g - peso inicial, em g); conversão alimentar aparente (consumo de ração em g/ganho de peso, em g); taxa de crescimento específico [(log natural do peso final em g - log natural do peso inicial em g)/(período experimental em dias) x 100]; e taxa de sobrevivência (número de peixes no final do experimento/total de peixes no início do experimento x 100). No início do experimento 80 peixes foram pesados, os quais apresentaram 31,2± 0,65g de peso, e 10,2±0,2 cm de comprimento total.

Análises hematológicas

Foram utilizados 40 peixes, sendo cinco peixes de cada unidade experimental, totalizando 20 peixes de cada tratamento para análises hematológicas e histológicas no final do experimento. Anteriormente às coletas, os peixes foram anestesiados (em solução de eugenol 50 mg L⁻¹) e

coletado o sangue por punção do vaso caudal, em seringas de 3 mL contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) com 10% de anticoagulante. Extensões sanguíneas foram feitas em duplicata e coradas, para contagem de trombócitos, leucócitos totais e contagem diferencial de leucócitos de acordo com Ranzani-Paiva et al. (2013). Uma alíquota do sangue foi utilizada para determinação do hematócrito pelo método do microhematócrito (Goldenfarb et al., 1971). Posteriormente, os capilares foram quebrados e a fração plasmática utilizada para determinação da proteína plasmática total em refratômetro portátil (modelo 301, Biobrix, São Paulo, Brasil). Outra alíquota de sangue (5 µL) foi destinada à contagem total de eritrócitos em câmara de Neubauer, após diluição (1:200) em formol citrato de acordo com Ranzani-Paiva et al. (2013). A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método da cianometahemoglobina (COLLER, 1944). Os índices hematimétricos, volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), foram calculados de acordo com o preconizado por Wintrobe (1933).

Análise morfológica e densidade celular do intestino

Após as coletas sanguíneas os peixes foram eutanasiados por aprofundamento anestésico (em solução de eugenol 70 mg L⁻¹), e realizada a necropsia para análise morfológica do intestino. Os intestinos foram fracionados em três porções, anterior, médio e posterior de forma que todas mantivessem mesmo comprimento de 2 cm. Os fragmentos foram fixados em solução de formalina 10% tamponada (pH 7,2) durante 24 horas. Posteriormente, os fragmentos foram transferidos para solução de álcool 70 GL, onde permaneceram até o momento do processamento histológico. Secções histológicas foram preparadas para cortes em Paraplast (Sigma Aldrich®) com espessura de 3 µm em micrótomo rotativo (Zeiss HYRAX M25, Germany). As secções foram coradas em Hematoxilina e Eosina (H&E), Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Azul de Alcian (AZ). Imagens digitalizadas (n= 5, magnitude 5, 400 e 1000x) de cada secção longitudinal e transversal de cada região e captadas digitalmente em uma câmera Nikon D3100 adaptada (P95-T2 1,6x DSLR, Zeiss) em microscópio ótico de campo claro (Primo Star, Zeiss). Para a análise histométricas das secções, considerou-se a medida do diâmetro total (µm) nas imagens de magnitude de 50x. A espessura e largura da vilosidade (µm), espessura da camada muscular interna e externa (µm), espessura da camada submucosa (µm) e espessura da camada mucosa (µm) foram mensuradas em cinco conjuntos de vilosidade por secção/região (Figura 1).

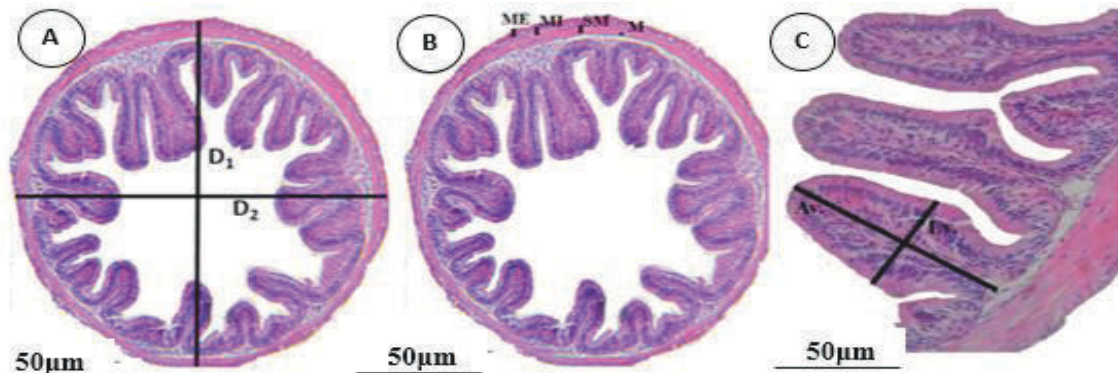


Figura 1. Secções histológicas do intestino de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em tecnologia bioflocos (BFT). Imagem **A** - As retas indicam as medidas lineares do primeiro diâmetro (D_1) e do segundo diâmetro (D_2). Imagem **B** - Corte transversal do intestino com respectivas camadas: Camada muscular externa (ME); camada muscular interna (MI); camada submucosa (SM) e camada mucosa (M). (2,5x). Imagem **C** - As retas indicam as medidas lineares da altura da vilosidade (A_v) e largura da vilosidade (L_v).

A área e o perímetro (μm) do núcleo e do citoplasma dos enterócitos e a área (μm^2) das células caliciformes ($n=50/\text{secção}$) foram mensurados em imagens de 1000x de magnitude. A área nuclear e citoplasmática dos enterócitos foi usada para o cálculo da relação núcleo/citoplasma ($RNC_{Ent.} = \text{área do núcleo } (\mu\text{m}^2) / \text{área do citoplasma } (\mu\text{m}^2) \times 100$), segundo Andrade et al. (2017). As imagens ($n=5$ por secção/região, 400x de magnitude) foram utilizadas para análise da densidade celular (células/ mm^2). Para isso foram selecionadas aleatoriamente cinco vilosidades em cada secção histológica onde mensurou-se a área (μm^2) total de cada vilosidade para contagem das células enterocíticas, caliciformes, granulocíticas e agranulocíticas (Figura 2). Os valores obtidos foram convertidos mm^2 (Hedrer et al., 2013).

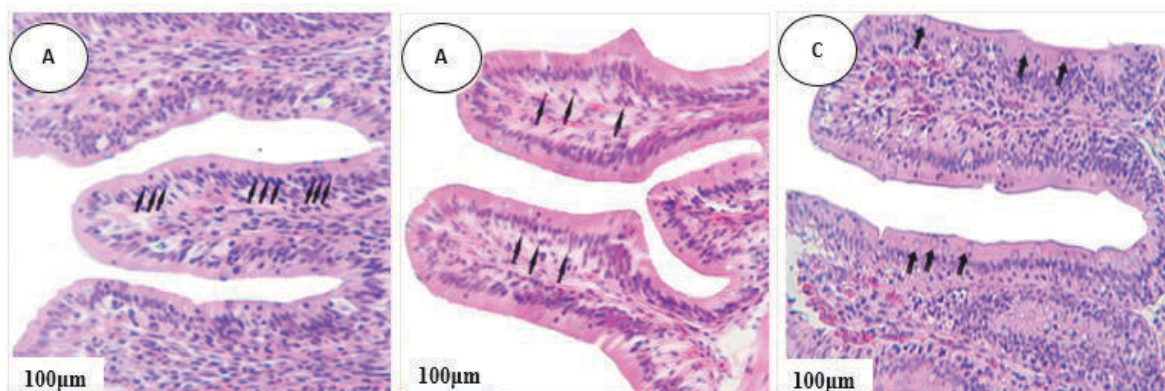


Figura 2. Secções histológicas do intestino de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidos em tecnologia bioflocos (BFT). Na imagem **A**, as setas mostram as células enterócitos presentes no intestino. Os granulocíticas estão representados na imagem **B** (seta). Na imagem **C**, as setas indicam as células caliciformes presentes no intestino.

Análise estatística

Os dados de desempenho, hematológicas, histométricos e de densidade celular foram analisados quanto à homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene. Quando as variâncias foram homogêneas, as variáveis dependentes foram submetidas à Análise de Variância com uma variável independente, no nível de significância de 5%. Quando as variâncias foram heterogêneas, as variáveis dependentes foram submetidas à Análise de Variância de Welch. Todas as análises foram executadas utilizando o programa computacional SAS® System versão 9.1 (SAS, 2002).

Resultados

Qualidade da água

A média da temperatura, oxigênio dissolvido, pH, nitrogênio amoniacal total, nitrito, nitrato, ortofosfato, alcalinidade e sólidos sedimentáveis não foram diferentes significativamente entre os tratamentos (Tabela 2). Todavia, houve maiores concentrações de nitrogênio amoniacal total (TAN), nitrito e nitrato ao longo do experimento, com concentrações extremamente altas de nitrito com 34 dias de experimento na BFT sem simbiótico (Figura 3). Por outro lado, a concentração de flocos foi contínua nos dois tratamentos (Figura 4).

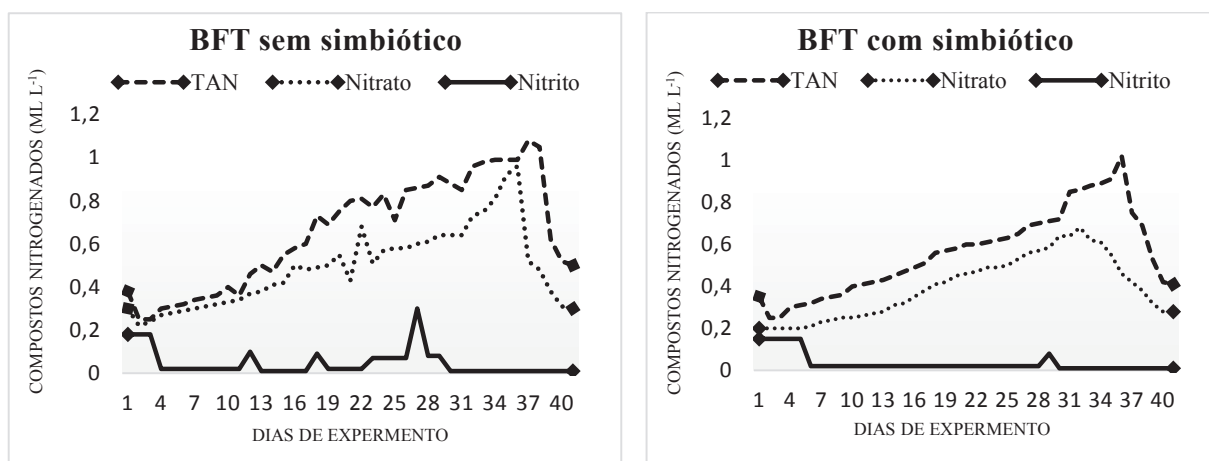


Figura 3. Flutuações de compostos nitrogenados (TAN, nitrito e nitrato), durante 40 dias de produção de juvenis de tilápia-do-Nilo em tecnologia de bioflocos (BFT) com e sem simbiótico.

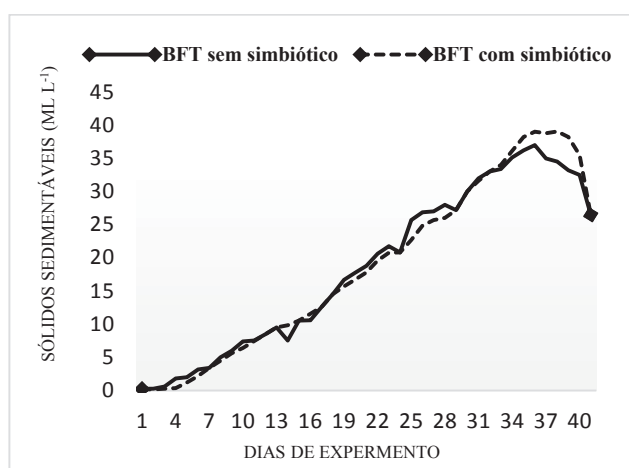


Figura 4. Flutuações de sólidos sedimentáveis (volume de flocos em suspensão), durante 40 dias de produção de juvenis de tilápia-do-Nilo em tecnologia de bioflocos (BFT) com e sem simbiótico.

Desempenho

O peso final, ganho em peso e taxa de crescimento específico foram maiores ($P < 0,05$) nos peixes produzidos no BFT com simbiótico. A conversão alimentar aparente foi maior ($P < 0,05$) nos peixes produzidos no BFT sem simbiótico. O comprimento total e sobrevivência não diferiram estatisticamente nos peixes produzidos no BFT com e sem simbiótico (Tabela 3).

Tabela 3. Desempenho de tilápia-do-Nilo produzida durante 40 dias em BFT com simbiótico e sem simbiótico.

	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico	p-valor
Peso final (g)	73,31±0,73 ^b	77,28±0,61 ^a	0,0002
Comprimento total (cm)	13,53±0,21 ^a	13,78±0,33 ^a	0,2465
Ganho em peso (g)	42,54±0,77 ^b	46,79± 0,64 ^a	0,0001
Conversão alimentar aparente	1,02±0,01 ^a	0,94±0,01 ^b	<0,0001
Sobrevivência (%)	93,75±7,22 ^a	96,88±6,25 ^a	0,0537
TCE (%)	2,17±0,04 ^b	2,33±0,03 ^a	0,0004

Médias seguidas por letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($P < 0,05$), pela análise de variância. BFT: tecnologia de bioflocos. TCE: Taxa de crescimento específico.

Análise hematológica

O percentual de hematócrito e as concentrações de proteína plasmática total (PPT) e das células sanguíneas leucócitos e trombócitos foram maiores ($P < 0,05$) nos peixes produzidos no BFT com simbiótico em relação aos peixes produzidos no BFT sem simbiótico. Por outro lado,

maior ($P<0,05$) concentração de basófilos e neutrófilos foi observada nos peixes produzidos no BFT sem simbiótico em relação aos peixes produzidos no BFT com simbiótico. A hemoglobina, o número de eritrócitos (RBC), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) não diferiram entre os tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4. Características hematológicas de tilápia-do-Nilo após 40 dias de produção em BFT com simbiótico e sem simbiótico.

Características	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico	p-valor
Hemoglobina (g.dL ⁻¹)	3,17±1,02 ^a	3,44±1,75 ^a	0,0510
PPT (g.dL ⁻¹)	4,23±0,65 ^b	5,34±0,54 ^a	<0,0001
RBC (10 ⁶ µL ⁻¹)	1,12±0,09 ^a	1,16±0,9 ^a	0,2415
VCM (fL)	287,13±55,78 ^a	365,17±67,94 ^a	0,4658
CHCM (g.dL ⁻¹)	7,72±3,60 ^a	7,46±1,86 ^a	0,2949
Leucócitos (10 ³ µL ⁻¹)	83,85±30,03 ^b	113,98±24,60 ^a	0,0005
Trombócitos (10 ³ µL ⁻¹)	52,13±13,24 ^b	68,81±10,94 ^a	<0,0001

Médias seguidas por letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($P<0,05$), pela análise de variância. BFT: tecnologia de bioflocos. PPT: proteína plasmática total. RBC: número de eritrócitos. VCM: volume corpuscular médio. CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular.

Análises morfológicas do intestino

A espessura da camada mucosa nas três regiões (anterior, média e posterior) do intestino foi maior ($P<0,05$) nos peixes produzidos em BFT com simbiótico em relação aos peixes produzidos em BFT sem simbiótico. Para os valores do diâmetro, espessura da camada muscular externa, espessura da camada muscular interna e espessura da camada submucosa nas três regiões (anterior, média e posterior) não diferiram entre peixes produzidos em BFT com e sem simbiótico (Tabela 5). Os valores da área da vilosidade, altura da vilosidade e largura da vilosidade nas três regiões (anterior, médio e posterior) do intestino não diferiram entre peixes produzidos em BFT com e sem simbiótico (Tabela 6).

Tabela 5. Morfometria do intestino de tilápia-do-Nilo após 40 dias de produção em BFT com simbiótico e sem simbiótico.

Variáveis	Região do intestino	BFT sem simbióticos	BFT com simbióticos	p-valor
Diâmetro do intestino (μm)	Anterior	1939,9 \pm 284,2 ^a	1850,9 \pm 337,5 ^a	0,6641
	Médio	1131,9 \pm 179,8 ^a	1357,2 \pm 501,0 ^a	0,3717
	Posterior	1286,2 \pm 388,8 ^a	1492,3 \pm 556,2 ^a	0,4146
Espessura da camada muscular externa (μm)	Anterior	18,6 \pm 4,1 ^a	19,4 \pm 4,3 ^a	0,3475
	Médio	21,6 \pm 5,5 ^a	18,8 \pm 3,2 ^a	0,3591
	Posterior	19,1 \pm 3,6 ^a	20,6 \pm 6,1 ^a	0,6509
Espessura da camada muscular interna (μm)	Anterior	30,1 \pm 3,2 ^a	28,3 \pm 4,2 ^a	0,4595
	Médio	36,2 \pm 11,5 ^a	28,3 \pm 5,7 ^b	0,2068
	Posterior	33,6 \pm 8,9 ^a	28,3 \pm 4,3 ^a	0,3392
Espessura da camada submucosa (μm)	Anterior	41,4 \pm 3,9 ^a	46,5 \pm 18,2 ^a	0,5583
	Médio	53,0 \pm 14,6 ^a	63,3 \pm 14,0 ^a	0,2879
	Posterior	44,5 \pm 14,8 ^a	39,3 \pm 14,9 ^a	0,5913
Espessura da camada mucosa (μm)	Anterior	15,2 \pm 3,4 ^b	21,4 \pm 4,5 ^a	0,0421
	Médio	15,7 \pm 4,4 ^b	19,6 \pm 2,6 ^a	0,0485
	Posterior	14,6 \pm 3,7 ^b	19,2 \pm 1,5 ^a	0,0315

Médias seguidas por letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($P < 0,05$), pela análise de variância. BFT: tecnologia de bioflocos. PPT: proteína plasmática total. RBC: número de eritrócitos. VCM: volume corpuscular médio. CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular.

Tabela 6. Morfometria da vilosidade do intestino de tilápia-do-Nilo após 40 dias de produção em BFT com simbiótico e sem simbiótico.

Variáveis	Região do intestino	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico	p-valor
Área da vilosidade (μm^2)	Anterior	16371,9 \pm 1636,9 ^a	17955,1 \pm 684,2 ^a	0,0811
	Médio	15482,0 \pm 1144,1 ^a	16058,0 \pm 1443,2 ^a	0,5043
	Posterior	14888,0 \pm 921,5 ^a	16005,0 \pm 1660,2 ^a	0,2248
Altura da vilosidade (μm)	Anterior	212,7 \pm 11,7 ^a	233,9 \pm 22,6 ^a	0,0983
	Médio	212,4 \pm 9,7 ^a	221,1 \pm 20,9 ^a	0,4240
	Posterior	208,1 \pm 9,6 ^a	217,5 \pm 7,7 ^a	0,1250
Largura da vilosidade (μm)	Anterior	103,3 \pm 5,5 ^a	118,4 \pm 17,9 ^a	0,1099
	Médio	102,4 \pm 6,0 ^a	106,3 \pm 10,8 ^a	0,4941
	Posterior	101,6 \pm 10,5 ^a	102,5 \pm 1,2 ^a	0,8572

Médias seguidas por letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($P < 0,05$), pela análise de variância. BFT: tecnologia de bioflocos.

Quanto a densidade celular, apenas a densidade de células calciformes na região anterior do intestino foi maior ($P < 0,05$) nos peixes produzidos em BFT com simbiótico comparativamente aos peixes produzidos no BFT sem simbiótico (Tabela 7).

Tabela 7. Densidade celular do intestino de tilápia-do-Nilo após 40 dias de produção em BFT com simbiótico e sem simbiótico.

Variáveis	Região do intestino	BFT sem simbiótico	BFT com simbiótico	p-valor
Enterócitos (células /mm ²)	Anterior	3125,0±230,5 ^a	2985,46±347,9 ^a	0,4791
	Médio	2926,3±418,8 ^a	2964,9±418,8 ^a	0,8842
	Posterior	2996,1±197,7 ^a	2973,6±460,9 ^a	0,9225
Granulócitos (células /mm ²)	Anterior	690,9±62,5 ^a	705,1±57,3 ^a	0,7182
	Médio	657,5±113,9 ^a	686,7±66,4 ^a	0,6642
	Posterior	653,6±67,5 ^a	690,2±68,4 ^a	0,4193
Agranulócitos (células /mm ²)	Anterior	3058,8±230,6 ^a	2816,2± 149,3 ^a	0,0838
	Médio	2874,5±219,7 ^a	2878,8±445,9 ^a	0,9850
	Posterior	3052,2±477,6 ^a	3002,2±253,8 ^a	0,8414
Caliciforme (células /mm ²)	Anterior	1032,2±58,3 ^b	1209,1±113,2 ^a	0,0146
	Médio	934,3±72,9 ^a	1001,1±70,2 ^a	0,2379
	Posterior	846,4±85,1 ^a	969,4±160,4 ^a	0,1680

Médias seguidas por letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($P < 0,05$), pela análise de variância. BFT: tecnologia de bioflocos.

Discussão

A utilização de aditivos prebiótico, probiótico e simbiótico tem sido relatada na produção animal incorporados à ração, proporcionando bons resultados no desempenho de diversas espécies, incluindo dos peixes. Considerando que em tecnologia de bioflocos (BFT) existem vários microrganismos que melhoram a qualidade da água e servem como complemento nutricional, os referidos aditivos incorporados na água podem proporcionar melhora na produção de peixes.

A adição do simbiótico (*Bacillus toyi*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* e *Mananoligosacarídeo*) na água em BFT melhorou o peso final, ganho de peso, conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico. Este resultado pode ser explicado pela diversidade de microrganismos no BFT quando suplementado com simbiótico. O BFT proporciona melhor desempenho zootécnico dos peixes comparativamente aos sistemas de água clara (Bossier e Ekasary, 2017), o que é esperado pois os flocos do BFT apresentam alta concentração de microrganismos que são ricos em nutrientes e que melhoram a qualidade da água (Emerenciano et al., 2013).

A melhora no desempenho da tilápias-do-Nilo com simbiótico foi semelhante ao obtido por Lara-Flores et al. (2003) que evidenciaram que a incorporação de probiótico na água clara proporcionou maior ganho de peso e conversão alimentar aparente. Da mesma forma, Jatobá e Mouriño (2015) relataram melhoria no ganho em peso e conversão alimentar aparente com a

incorporação de probiótico na água. Estes resultados corroboram que a utilização do aditivo simbiótico na água melhora o desempenho zootécnico dos peixes.

Vários trabalhos têm evidenciado melhora no desempenho em tilápia-do-Nilo produzido com aditivo simbiótico incorporado na ração (Abu-Elala et al., 2013; Hassaan et al., 2014; Agung et al., 2015), prática mais comum na produção de peixes em água clara. Todavia, a incorporação dos aditivos pode levar a alteração da qualidade das rações, tendo em vista que esta prática geralmente ocorre posteriormente a extrusão da ração mediante a adição de óleo. Neste contexto, a incorporação dos aditivos na água é mais adequada por não interferir na composição da ração. Além disso, na BFT os aditivos podem atuar no desenvolvimento dos microrganismos dos flocos melhorando o sistema de produção.

As características hematológicas dos peixes produzidos na BFT com simbiótico, em geral, foram melhores em relação aos peixes produzidos em BFT sem simbiótico, principalmente evidenciado pela maior porcentagem de concentração de proteínas plasmáticas totais e das células sanguíneas. Ao avaliar o efeito da BFT sobre a hematologia de tilápia-do-Nilo Long et al. (2015) observaram que não houve diferença significativa na análise hematológica em termos de contagem de glóbulos brancos e glóbulos vermelhos, níveis de hemoglobina.

Os resultados hematológicos corroboram o efeito positivo da BFT com simbióticos na melhora do sistema imune da tilápia-do-Nilo, inclusive com melhores condições em relação ao início do experimento. O aumento nos níveis de proteínas plasmáticas totais está associado a um fortalecimento do sistema imune inato (Rao et al., 2006). Resultado semelhante foi observado por Mansour e Esteban, (2017) no cultivo de tilápia em BFT sem simbiótico. No entanto Long et al. (2015), observaram que o conteúdo total de proteínas no soro de tilápia-do-Nilo não diferiu significativamente no BFT.

Semelhante ao observado no presente trabalho, os aditivos têm mostrado melhora nas características hematológicas de tilápia-do-Nilo, como pode ser observado no trabalho de Agung et al. (2015), os quais encontraram aumento de hemoglobina com simbiótico, e Hassaan et al. (2014), os quais observaram o aumento de proteína plasmática total com a utilização de simbiótico, sendo o aditivo incorporado na ração.

A adição de simbiótico no BFT não interferiu no número de eritrócitos, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média, entre os peixes em estudo, indicando que estas variáveis foram adequadas no BFT independentemente da utilização de simbiótico. Estas

variáveis também não diferiram nos trabalhos Telli et al. (2014) e Nakandakare et al. (2013) com utilização de simbiótico e probiótico de em tilápia-do-Nilo, respectivamente.

Os leucócitos também desempenham um importante papel na imunidade inata durante a inflamação, sendo que alta quantidade destas células é considerada um indicador do estado de saúde dos peixes (Secombes, 1996), uma vez que essas células são responsáveis pela resposta imune contra patógenos (Antunes et al., 2017; Neto et al., 2019). Resultado semelhante foi observado por Mansour e Esteban (2017), no cultivo de tilápia-do-Nilo no BFT. Neste estudo, o BFT com simbiótico teve efeito benéfico sobre as condições imunológicas dos peixes. Dietas com aditivo prebiótico, probiótico ou simbiótico induz a alta produção de células que atuam no sistema imunológico e defesa de organismos aquáticos (Secombes et al., 1996). Essa capacidade fagocítica das células de defesa para diferentes aditivos foi relatada por Burrows et al. (2001), Stosik et al. (2001), Tavares-Dias et al. (2007) e Martins et al., (2008). Aumento das células de defesa em tilápia-do-Nilo também foram observados por Telli et al. (2014) e Nakandakare et al. (2013).

A utilização do simbiótico na água não interferiu na morfometria do intestino da tilápia-do-Nilo, o que mostra que a utilização de simbiótico no BFT não alterou o diâmetro, espessura da camada muscular (externa e interna), espessura da camada submucosa e espessura da camada mucosa em nenhuma das regiões avaliadas, exceto para espessura da camada mucosa que foi melhor nas três regiões (posterior) do intestino. Resultados diferentes foram observados por outros autores, os quais observaram alterações na morfometria com suplementação de aditivo (prebiótico, probiótico e simbiótico) na ração em tilápia-do-Nilo em água clara (Cerezuela et al., 2011; Ringø et al., 2014, Hassaan et al., 2015; Huynh et al., 2017) e na BFT (Ozel et al., 2018; Gao et al., 2014). Estes resultados evidenciam que a suplementação do simbiótico na água da BFT não exerce o mesmo efeito no intestino que o aditivo incorporado na ração. Todavia, a maior espessura da camada mucosa nas três regiões em BFT com simbiótico indica melhora na absorção de nutrientes na referida região do intestino, tendo em vista que esta camada está ligada a função de absorção de nutrientes (Moraes et al., 1997).

A alteração da morfometria do intestino da fase inicial para fase final do experimento no BFT, independente da utilização de simbiótico, foi evidenciado principalmente pela diminuição da espessura da camada muscular externa e aumento da espessura da camada muscular interna e da espessura da camada submucosa, que possivelmente está associada ao desenvolvimento natural dos peixe após 40 dias de experimento (Zahran et al. 2014), e também pela dieta dos peixes

associada ao consumo dos microrganismos presentes no flocos (Gao et al., 2014), tendo em vista que a espessura da camada muscular nos peixes está associada com a dieta (Diaz et al., 2006).

A mucosa intestinal está relacionada com os processos fisiológicos de digestão e absorção, e as regiões com maior concentração de pregas intestinais estão principalmente envolvidas nos processos de absorção, devido ao aumento da área efetiva para absorção de nutrientes (Takashima e Hibiya, 1995). O aumento da morfometria das vilosidades (exceto para área e largura da vilosidade na região posterior) após 40 dias de experimento em relação ao início do experimento é esperado devido ao crescimento dos peixes, conforme também observado por Mello et al. (2013).

O simbiótico adicionado na água não alterou a morfometria das vilosidades do intestino dos peixes produzidos no BFT. Estes resultados também contrariam os resultados com a utilização de aditivo na ração em tilápia-do-Nilo, conforme pode-se observar nos trabalhos com probiótico de Aly et al. (2008); Pirarat et al. (2011) e Mello et al. (2013), e com simbiótico de Abu-Elala et al. (2013), Adeoye et al. (2016) e Galagarza et al. (2018), os quais observaram alterações na morfologia intestinal. A utilização de simbiótico na água não promove grande melhora na absorção dos nutrientes comparativamente a utilização destes aditivos na ração.

As células na mucosa intestinal estão relacionadas a existência de um sistema imune local (Rombout et al., 1989). Estas células têm uma função regulatória, suprimindo a resposta do sistema imune para antígenos intestinais e induzindo simultaneamente a uma resposta imune. Portanto, o aumento da quantidade de enterócitos na região anterior e de calciformes na região posterior indicam uma melhora no sistema imune do intestino. A adição de prebióticos, probióticos e simbióticos na dieta dos peixes estimulam a desenvolvimento de células calciformes no intestino (Nayak, 2010 e Mello et al., 2013). Por outro lado, Nakandakare et al. (2013); Silva et al. (2015) também relatam o aumento de número de células calciformes em tilápia-de-Nilo suplementado com aditivo probiótico.

Na BFT há um rico ambiente microbiano que pode ter ação imune benéfica a saúde dos peixes (Ahmad et al., 2017). O simbiótico afeta beneficemente o hospedeiro melhorando a sobrevivência e a implantação de dieta microbiana viva no trato gastrointestinal, estimulando seletivamente o crescimento e ativando o metabolismo de bactérias promotoras da saúde, melhorando assim o bem-estar animal (Gibson e Roberfroid, 1995; Cerezuela et al., 2011; Ringø et al., 2014). Este aditivo altera em número e diversidade a comunidade bacteriana intestinal (Hassaan et al., 2015; Huynh et al., 2017). A adição de simbiótico em BFT afetam a comunidade

de microrganismos presentes nos flocos, melhorando o desempenho dos peixes e sistema imunológico dos peixes, mas sem grandes modificações na morfometria e na concentração de células do intestino, conforme observado no presente trabalho.

Conclusão

A inclusão do aditivo simbiótico em BFT melhora o desempenho e não alterou as características hematológicas de juvenis de tilápia-do-Nilo.

Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e o Ministério de Ciência e Tecnologia, Ensino Superior e Técnico-Profissional de Moçambique (MCTESTP) por apoiar este projeto.

Referências

- Abu-Elala, N.; Marzouk, M.; Moustafa, M. 2013. Use of different *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 1, 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.001>.
- Adeoye, A. A.; Yomla, R.; Jaramillo-Torres, A.; Rodiles, A.; Merrifield, D. L.; Davies, S. J. 2016. Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome. *Aquaculture*. 463, 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.028>.
- Agung, L. A.; Widanarni, I.; Yuhana M. 2015. Application of Micro- Encapsulated Probiotic *Bacillus* NP5 and Prebiotic Mannan Oligosaccharide (MOS) to Prevent Streptococcosis on Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Research Journal of Microbiology*. 10 (12): 571-581. <https://scialert.net/abstract/?doi=jm.2015.571.581>.
- Ahmad, I. Rani, A. M. B.; Verma, A. K.; Maqsood, M. 2017. Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. *Aquaculture*. 1215-1226. <https://www.researchgate.net/publication/312292781>.
- Aly, S. M.; Ahmed, Y.A.; Ghareeb A. A.; Mohamed, M. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish & Shellfish Immunology*. 25, 128-136. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.03.013>.
- Antunes, B.D.M., Rossi, F.E., Inoue, D.S., Neto, J.C.R., Lir, F.S., 2017. Imunometabolismo e Exercício Físico: Uma nova fronteira do conhecimento. *Motricidade* 13, 85–98. <https://doi.org/10.6063/motricidade.7941>.
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*. 264, 140-147. <https://doi.org/10.1016/j>.

- Avnimelech, Y. 2015. Biofloc technology - A practical guidebook. 3. The World Aquaculture Society. Baton Rouge. Louisiana, EU. Aquaculture. 176, 227-235. <https://www.research-gate.net/publication/308052605>.
- Azevedo, R.V.; Fosse Filho, J.C.; Cardoso, L.D.; Mattos, D.C.; Vidal Júnior, M.V.; Andrade, D.R. 2015. Economic evaluation of prebiotics, probiotics and symbiotics in juvenile Nile tilapia. *Revista de Ciência Agronômica*. 46, 1. 72-79. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902015000100009>.
- Bossier, P.; Ekasari, J. 2017. Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. *Microb. Biotechnol.* 10, 1012-1016. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12836>.
- Brol, J.; Pinho, S.M.; Sgnaulin, T.; Pereira, K. da R.; Thomas, M.C.; De Mello, G.L.; Miranda-Baeza, A.; Emerenciano, M.G.C. 2017. Tecnologia de bioflocos (BFT) no desempenho zootécnico de tilápias: efeito da linhagem e densidades de estocagem. *Arch. Zootec.* 66 (254): 229-235. <https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/article/view/2326>.
- Burrows A.S.; Fletcher T.C.; Manning M.J.; 2001. Haematology of turbot, *Psetta maxima* (L.): ultrastructural cytochemical and morphological properties of peripheral blood leucocytes. *J Appl Ichthyol.* 17, 77-84. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2001.00250>.
- Cerezuela, R.; Meseguer, J.; Esteban, M.A. 2011. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: a review. *Journal of Aquaculture Research & Development*. P. 2 -7. <https://www.longdom.org/open-access/current-knowledge-in-synbiotic-use-for-fish-aquaculture-a-review-2155-9546.S1-008.pdf>.
- Crab, R.; Defoirdt, T.; Bossier, P.; Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*. 356-357, 351-356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>.
- De Schryver, P, R.; Crab, T.; Defoirdt, N.; Boon, W.; Verstraete. 2008. The basics of bio-flocs technology: The benefit for aquaculture. *Aquaculture*, v.277, 125-137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>.
- Dempster, P.; Baird, D. J.; Beveridge, M. C. M. 1995. Can fish survive by filter feeding on microparticles? Energy balance in tilapia grazing on algal suspension. *Journal of Fish Biology*, 47: 7-17. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1995.tb01868>.
- Diaz, A. O.; García, A. M.; Goldemberg, A. L. 2008. Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: a histochemical study. *Acta Histochem.* 110, 76-85. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2007.08.002>.
- Durigon, E. G.; Almeida, A. P. G.; Jerônimo, G. T.; Baldisserotto, B.; Emerenciano, M. G. C. 2019. Digestive enzymes and parasitology of Nile tilapia juveniles raised in brackish biofloc water and fed with different digestible protein and digestible energy levels. *Aquaculture*. 506, 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.022>.
- Durigon, E.G.; Lazzari, R.; Uczay, J.; Lopes, D. L. A.; Jerônimo, G. T.; Sgnaulin, T.; Emerenciano, M. G. C. 2019. Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in brackish water. 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.07.001>.
- Eaton, A.D.; Cleserci, L.S. and Greenberg, A.E. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. 10th ed. Amer. Pub. Health Assoc. Washington, D.C.
- El-Sayed, E.M. 2006. Tilapia culture. CABI publishing. Cambridge. Massachusetts, USA. 275.

- Emerenciano, M.; Cuzon, G.; Paredes, A. and Gaxiola, G. 2013. Evaluation of biofloc technology in pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* culture: growth performance, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of biofloc. *Aquaculture Int.* 21, 1381-1394. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10499-013-9640-y.pdf>.
- FAO- Food and Agriculture Organization (2018). The state of World Fisheries and Agriculture – Meeting the sustainable development goals. <http://www.fao.org/3/I9540 EN/i9540>
- Fóes, G. K.; Gaona, C. A. P.; Poersch, L. H. 2012. Cultivo em bioflocos (BFT) é eficaz na produção intensiva de camarões. *Seguimento de Aquacultura*.11, 28-32. <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va11>.
- Galagarza, O. A.; Smith, S. A.; b, Drahos, D.J.; Eiferta, J. D.; Williamsa, R.C.; Kuhn, D. D. 2018. Modulation of innate immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary supplementation of *Bacillus subtilis* endospores. *Fish and Shellfish Immunology*. 83, 171-179. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.08.062>.
- Gao, Y.; Yang, H.J.; Liu, Y. J.; Chen, S.J.; Guo, D. Q.; Yu, Y.Y.; Tian, L. X. 2014. Effects of graded levels of threonine on growth performance, biochemical parameters and intestine morphology of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*.113-119. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.043>.
- Gibson, G.R.; Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*. 125, 1401-1412. <https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401>.
- Goldenfarb, P.B.; Bowyer, F.P.; Hall, E.; 1971. Brosious, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56 (1), 35-39, <https://doi.org/10.1093/ajcp/56.1.35>. Accessed date: 17/05/2019.
- Harikrishnan, R.; Kim, M.C.; Kim, J.S.; Balasundaram, C.; Heo, M.S. 2011. Protective effect of herbal and probiotics enriched diet on haematological and immunity status of *Oplegnathus fasciatus*(Temminck & Schlegel) against *Edwardsiella tarda*. *FishShellfish Immunol.* 30, 886-893. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.01.013>.
- Hassaan, M. S.; Soltan, M. A.; Ghonemy, M. M. R. 2014. Effect of synbiotics between *Bacillus licheniformis* and yeast extract on growth, hematological and biochemical indices of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Egyptian Journal of Aquatic Research*. 40, 199-208. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2014.04.001>.
- Hedrera, M.; Galdames, J.; Gimenez-Reyes, M.; Reyes, A.; Avandaño-Herrera, R.; Romero J. 2013. Soybean meal induces intestinal inflammation in zebrafish larvae. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0069983>.
- Huynh, T. G.; Shiu Y. L.; Nguyen, T. P.; Truong, Q. P.; Chen, J. C.; LIU, C. H. (2017). Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 64, p. 367-382. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.035>.
- IBGE, 2018. Pesquisa Pecuária Municipal: Produção da aquicultura. Disponível a partir de: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3940&z=t&o=21>, Data de acesso: 28 de outubro de 2019.
- Jatobá A; Mouriño, JLP. 2015. Efeito do *Lactobacillus plantarum* no trato intestinal de alevinos de *Oreochromis niloticus*. *Ciência Animal Brasileira*. 16, (1): 45-53. <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/27789>.

- Kildea, M.A.; Allan, G.L.; Kearney, R.E. 2004. Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and Aqui-STM from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*. 232, 265-277. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00483-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00483-6).
- Kubitza, F. 2011. Tilápia: Tecnologia e planejamento na produção comercial, Jundiaí: Aqua Supre, 316. <http://acquamagem.com.br/website/tilapia-tecnologia-e-planejamento-na-producao-comercial-2a-edicao>. Data de acesso: 19/9/2019.
- Lara-Flores, M.; Olvera-Novoa, M.A.; Guzmán-Méndez, B.E.; López-Madrid W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 216, 193-201. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00277-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00277-6).
- Long, L.; Yang, J.; Li, Y.; Guan, C.; Wu, F. 2015. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 448, 135-141. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.017>.
- Mansour, A. T.; Esteban, M. A. 2017. Effects of carbon sources and plant protein levels in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Fish & Shellfish Immunology*. 64, 202-209 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.025>.
- Martins, M.L.; Miyazaki, D.M.Y.; Moraes, F.R.; Ghiraldelli, L.; Adamante, W.B.; Mouriño, J.L. 2008. P. Vitamin C and E supplemented diet influences the acute inflammatory response in Nile tilapia. *Ciência Rural*, Santa Maria.38 (1):213-218. file:///C:/Users/toshiba/Downloads/Vitamin_C_and_E_supplemented_diet_influences_the_a.pdf . Data de acesso: 27/9/2019.
- Mello, H. D.; J. R. E.; Moraes, I. G.; Niza, F. R. D.; Moraes, R. O. A.; Ozório, M. T.; Shimada, J. R.; Filho, E.; Claudiano, G. S. 2013. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33, 724-730. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013000600006>.
- Moraes, M. F. P. G.; Barbola, I. F.; Guedes, E. A. C. 1997. Alimentação e relações morfológicas com o aparelho digestório do “curimatá”, *Prochilodus lineatus*, de uma lagoa do sul do Brasil. *R. Bras. Zoologia*.14, 169-180. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81751997000100015>.
- Nakandakare, I.B.; Iwashita, M.K.P.; Dias, D.C.; Tachibana, L.; Ranzanipaiva, M.J.T.; Romagosa, E. 2013. Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilápias-do-nilo: parâmetros hematológicos, imunológicos e microbiológicos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 39 (2):121-135. https://www.pesca.sp.gov.br/39_2_121-135.pdf.
- Nayak, S. 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish Shellfish Immunol*. 29, 2-14. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.02.017>.
- Neto, J. A. B.; Gaylarde, C.; Beech, I.; Bastos, A. C.; Da Silva Quaresma, V.; De Carvalho, D. G. (2019). Microplastics and attached microorganisms in sediments of the Vitória bay estuarine system in SE Brazil. *Ocean & Coastal Management*, 169, 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2018.12.030>.
- Ozel, O. T.; Çakmak, E.; Coşkun, İ.; Çankırılıgil, E. C. 2018. Evaluation of growth performance and intestine villi morphology of black sea trout (*Salmo labrax* Pallas, 1814) fed with different protein levels containing diets. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.125- 130. <https://www.rese-archgate.net/publication/325897497>.

- Pérez-Fuentes, J. A.; Hernández-Vergara, M. P.; Pérez-Rostro, C. I.; Fogel, I. 2016. C:N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture*, v. 452, n. 1, p. 247-251. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.010>.
- Pirarat, N.; Pinpimai, K.; Endo, M.; Katagiri, T.; Ponpornpisit, A.; Chansue, N. 2011. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Research in Veterinary Science* 91(3): 92-97. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.20-11.02.014>.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I. 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. 2, 140. <https://www.jstor.org/stable/10.7476/9788576286530>.
- Rao, Y. V. Das, B. Jyotirmayee, P.; Chakrabarti, R.. 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*, *Fish. Shellfish Immunol.* 20 (3) 263-273. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.04.006>.
- Ringø, E.; Olsen, R.E.; Jensen, I., Romero, J.; Lauzon, H.L. 2014. Application of vaccines and dietary supplements in aquaculture: possibilities and challenges. *Fish Biology and Fisheries.* 24, 1005-1032. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11160-014-9361-y.pdf>.
- Rombout, J. H. W. M.; Bot, H. M.; Taverne-Thiele, J. J. 1989. Immunological importance of the second gut segment of carp: characterization of mucosal leucocytes. *J. Fish Biol.* 35, 167-178. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1989.tb02966>.
- Samocha, T. M.; Prangnell, D. I.; Hanson, T. R.; Treece, G. D.; Morris, T. C.; Castro, L. F.; Staresinic, N. 2017. Design and Operation of Super Intensive, Biofloc Dominated Systems for Indoor Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* The Texas A & M Agri Life Research Experience. Louisiana: The World Aquaculture Society. 368. <http://www.was.org/Shopping/desgin-and-operation-of-superintensive-biofloc-dominat-ed-systems-for-the-production-of-pacific-white-shrimp>.
- Secombes C.J.; Hardie L.J.; Daniels G. 1996. Cytokines infish: an update. *Fish & Shellfish Immunology.* 6, 291-304. <http://dx.doi.org/10.1006/fsim.1996.0030>.
- Selim, K. M.; Reda, R. M. 2015. Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Fish & Shellfish Immunology.* 44, 496-503. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.004>.
- Silva, T. F A.; Petrillo, T.R.; Yunis-Aguinaga, J.; Marcusso, P.F.; Claudiano, G. S.; Moraes, F.R.; Moraes, J.R. E. 2015. Effects of the probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* on growth performance, hematology and intestinal morphometry in cage-reared Nile tilapia. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 43 (5): 963-971. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/lajar/v43n5/art16.pdf>.
- Stosik H.; Deptula W.; Travnicek M. 2001. Studies on the number and ingesting ability of thrombocytes in sick carps (*Cyprinus carpio*). *Vet Med.* 46, 12- 16.
- Takashima, F.; Hibiya, T. 1995. An atlas of fish histology: normal and pathological features. 2, 195. <https://doi.org/10.1002/iroh.19840690307>.
- Tavares-Dias, M; Moraes, F. R. 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology.* 71, 383-388. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01494>.
- Telli, G. S.; Ranzani-Paiva, M.J.T.; Dias, D.C.; Sussel, F.R.; Ishikawa, C.M.; Tachibana, L. 2014. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and nonspecific immunity of

- Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. *Fish & Shellfish Immunology*, 39 (2): 305-311. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.025>.
- Vilani, F. G.; Schweitzer, R.; Arante, R. F.; Vieira, F. N.; Santo, C. M. E.; Seiffert, W. Q. 2016. Strategies for water preparation in a biofloc system: Effects of carbon source and fertilization dose on water quality and shrimp performance. *Aquacultural Engineering*, Oxford, 74 (1): 70-75. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.06.002>.
- Wintrobe, M.M. 1933. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica*. 51, 32-49.
- Yoshida, G.M.; Oliveira C.A.L.; Kunita, N. M.; Rizzato, G. S.; RIBEIRO, R. P. 2015. Reproduction performance of female Nile tilapia under different environments and age classes. *Acta Sci Anim Sci*. 37, 22-226. <http://www.scielo.br/pdf/asas/v37n3/1807-8672-asas-37-03-00221.pdf>.
- Zahran, E.; Risha, E.; Abdel-Hamid, F.; Mahgoub, H. A.; Ibrahim, T. 2014. Effects of dietary *Astragalus polysaccharides* (APS) on growth performance, immunological parameters, digestive enzymes, and intestinal morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Fish. Shellfish Immun.* 38, 149. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.03.002>.