

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

**CRESCIMENTO E USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE
PIRAPUTANGA (*BRYCON HILARI*) E DOURADO
(*SALMINUS BRASILIENSIS*)**

Fúlvia Cristina Oliveira

CAMPO GRANDE - MS
2022

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

**CRESCIMENTO E USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE
PIRAPUTANGA (BRYCON HILARII) E DOURADO
(SALMINUS BRASILIENSIS)**

**GROWTH AND USE OF ADDITIVES IN THE PRODUCTION
OF PIRAPUTANGA (BRYCON HILARII) AND DOURADO
(SALMINUS BRASILIENSIS)**

Fúlvia Cristina Oliveira

Orientadora: Prof. Dr. Cristiane Meldau de Campos

Tese apresentada à Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul como
requisito à obtenção do título de
Doutora em Ciência

Animal. Área de concentração:
Produção Animal.

**CAMPO GRANDE – MS
2022**

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Cristiane Meldau pela orientação, paciência, compreensão e principalmente confiança e por toda ajuda durante esse período, que foi cheio de imprevistos. Meu eterno carinho e gratidão a senhora.

Aos alunos do laboratório de sanidade de peixes, obrigada pela amizade, convivência e pela ajuda em vários manejos e execução do experimento, especialmente, aos alunos da prof. Deliane Costa que foram sempre presentes, Gabriel Silva, Emanuel e Isabela.

Aos funcionários da UEMS e principalmente aos funcionários do setor de piscicultura pelo auxílio durante o período de experimentação.

Aos professores da UFMS, Dr. Carlos Eurico e aos seus alunos que sempre me acolheram no laboratório para a realização das análises, ao Dr. Jayme Povh por toda atenção sempre prestada, pelas conversas e ajuda no desenvolvimento do trabalho e ao Dr. Ruy pela ajuda na interpretação e análises de dados.

À Prof. Dr. Claudia Honorato da UFGD e seus alunos pela ajuda nas análises realizadas.

Ao Professor Dr. André Ferraz por toda ajuda e ideias fornecidas durante toda a pós graduação, principalmente pelo incentivo, amizade e ensinamentos.

Aos professores das disciplinas cursadas durante o curso, por todo o aprendizado que contribuíram para o enriquecimento da minha formação acadêmica e profissional.

À empresa GABBIA Biotecnologia® por fornecer os aditivos probiótico e paraprobiótico *Lactobacillus rhamnosus* e ao Gabriel pelas ideias fornecidas.

Agradeço a banca examinadora de qualificação Prof. Dr. Ruy Alberto Caetano Corrêa Filho e a Prof. Dr. Fabiana Pilarski pelas contribuições e correções que certamente agregaram muito a tese.

A minha família por sempre me apoiarem, mesmo que distante. E ao meu companheiro Thiago Sandim por sempre me apoiar e incentivar, obrigada pelo carinho e atenção.

À CAPES pela concessão da bolsa durante o período do doutorado.

Agradeço a Deus por me permitir não desistir e ir em busca dos meus sonhos.

E a todos que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento e finalização desse estudo.

RESUMO

OLIVEIRA, F. C. Crescimento e uso de aditivos na produção de piraputanga (*Brycon hilarii*) e dourado (*Salminus brasiliensis*). 2022. 118 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

Alguns aditivos podem melhorar a qualidade da água, estimulam o sistema imune e inibir o crescimento de patógenos, e têm sido utilizados como medida profilática nos sistemas de produção, com o intuito de melhorar a resistência dos animais frente a manejos estressantes como transporte e as infecções bacterianas. Dados sobre crescimento alométrico são cruciais para promover o desenvolvimento de protocolos de criação ideais e melhorar a eficiência de produção de juvenis de alta qualidade. Assim, esse estudo visa compreender o crescimento alométrico e o uso de aditivos na produção e transporte de peixes nativos. O artigo 1 identificou o padrão de crescimento de juvenis de piraputangas (*Brycon hilarii*) em hapas de 8 m³ na densidade de 20 peixes / hapa, durante sete meses. Características biométricas foram mensuradas a cada 30 dias. O fator de condição relativo indicou boas condições de crescimento das piraputangas com crescimento alométrico positivo, assim como todas as variáveis e correlações, exceto para peso x largura do corpo, comprimento padrão x comprimento da cabeça e comprimento padrão x altura do corpo. No artigo 2 foram avaliados os efeitos do óleo essencial (OE) de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) (OG) na água de transporte de juvenis de piraputanga sobre o perfil hematológico, componentes residuais do OE OG no plasma, filé, fígado e na qualidade de água. O transporte (duas horas) foi realizado em embalagens plásticas com as concentrações de 10, 20 e 30 mg L⁻¹ e um grupo controle, em triplicata. A sobrevivência durante e após o transporte foi de 100%. Os níveis de oxigênio permaneceram altos após o transporte e o pH diminuiu em todos os tratamentos. Após o transporte a hemoglobina, CHCM, HCM e glicose aumentaram nos peixes do grupo OE OG 30 mg L⁻¹. O número de neutrófilos aumentou nos peixes transportados com OE OG 10 mg L⁻¹. Com o crescente aumento das doses de OE OG houve aumento de linfócitos e de compostos no plasma, filé e fígado. Dose de 10 mg L⁻¹ de OE OG no transporte de juvenis de *Brycon hilarii*, é recomendada para transporte de duas horas, pois garantiu a sobrevivências dos peixes, não afetou os parâmetros hematológicos e a concentração

de resíduos foi baixa. O artigo 3 investigou o potencial da bactéria *Lactobacillus rhamnosus* como probiótico, paraprobiótico e sua combinação no desempenho produtivo, estado de saúde e na resistência do dourado (*Salminus brasiliensis*) infectado com *Aeromonas hydrophila*. Os peixes ($6,78 \pm 1,65$ g e $8,97 \pm 0,42$ cm) distribuídos em 16 tanques (300 litros), na densidade de 15 peixes/tanque receberam os tratamentos: dieta sem aditivo (dieta controle), probiótico (*L. rhamnosus* 10^8 UFC), paraprobiótico (*L. rhamnosus* 10^{10} UFC) e *L. rhamnosus* (viáveis probiótico *L. rhamnosus* 10^8 UFC + inativos paraprobiótico *L. rhamnosus* 10^{10} UFC), durante 45 dias. Posteriormente, os peixes foram desafiados intraperitonealmente com a bactéria *A. hydrophila* ($0,82 \times 10^6$ UFC). Nas análises hematológicas os valores de hemoglobina, hematócrito e número de eritrócitos reduziram após a infecção. Houve aumento significativo na atividade dos leucócitos, após a infecção, independente do tratamento. As dietas suplementadas com *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e paraprobiótico proporcionaram maior altura total dos vilos e altura dos vilos comparadas aos peixes que receberam a dieta controle. O número de células calciformes foi maior nos peixes que receberam as dietas contendo *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) e probiótico. A área do citoplasma dos hepatócitos dos peixes que receberam a dieta paraprobiótico foi maior. As dietas com paraprobiótico (*L. rhamnosus*) e *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) apresentaram potencial para melhorar a altura das vilosidades intestinais.

Palavras chave: morfometria, óleo essencial, probiótico, paraprobiótico.

ABSTRACT

OLIVEIRA, F. C. Growth and use of additives in the production of piraputanga (*Brycon hilarii*) and dourado (*Salminus brasiliensis*).2022. 118 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

Additives that improve water quality, stimulate the immune system, and inhibit the growth of pathogens have been used as prophylactic measures in cultivation systems, to improve the animal's resistance to stressful management such as transport and bacterial infection. Thus, this study aims to understand the allometric growth and the use of additives in the production and transport of native fish. Article 1 identified the growth pattern of juvenile piraputangas (*Brycon hilarii*) in hapas of 8 m³ at a density of 20 fish/hapa, for 7 months. Biometric characteristics were measured every 30 days. The relative condition factor indicated good growth conditions for piraputangas with positive allometric growth, as well as all variables and correlations, except for weight x body width, standard length x head length, and standard length x body height. In article 2, the effects of the essential oil (EO) of basil clove (*Ocimum gratissimum* L.) (OG) in the transport water of piraputanga juveniles on the hematological profile, residual components of OE OG in plasma, fillet, liver, and quality of water. Transport (two hours) was in plastic packaging with doses of 10, 20, and 30 mg L⁻¹ and a control group, in triplicate. Survival during and after transport was 100%. Oxygen levels remained high after transport and pH decreased in all treatments. After transport, hemoglobin, CHCM, HCM, and glucose increased in fish from the OE OG 30 mg L⁻¹ group. The number of neutrophils increased in fish transported with EO OG 10 mg L⁻¹. With increasing doses of OE OG, there was an increase in lymphocytes and compounds in plasma, fillet, and liver. A dose of 10 mg L⁻¹ of OE OG in the transport of juveniles of *Brycon hilarii* is recommended for a two hours transport as it ensured fish survival, did not affect hematological parameters and the residue concentration was low. Article 3 investigated the potential of the bacterium *Lactobacillus rhamnosus* as a probiotic, paraprobiotic and their combination on growth performance, health status, and resistance of dourado (*Salminus brasiliensis*) infected with *Aeromonas hydrophila*. The fish (6.78 ± 1.65 g and 8.97 ± 0.42 cm) distributed in 16 tanks (300 liters), at the density of 15 fish/tank received the treatments: diet without additive (control diet), probiotic (*L. rhamnosus* 10⁸ CFU), paraprobiotic (*L. rhamnosus* 10¹⁰ CFU) and synbiotic

(probiotic *L. rhamnosus* 10⁸ CFU + paraprobiotic *L. rhamnosus* 10¹⁰ CFU), for 45 days. Subsequently, the fish were challenged intraperitoneally with the bacterium *A. hydrophila* (0.82 x 10⁶ CFU). The diets with paraprobiotic and synbiotic improved the condition factor of the fish about the control and the diet containing probiotic. In the hematological analysis the values of hemoglobin, hematocrit, and number of erythrocytes were reduced after the infection. There was a significant increase in leukocyte activity after infection, regardless of treatment. Diets supplemented with symbiotic and paraprobiotic provided greater total villi height and villi height compared to fish that received the control diet. The number of goblet cells was higher in fish that received diets containing symbiotic and probiotic and the diet. The cytoplasm area of hepatocytes from fish that received the paraprobiotic diet was higher. The diets with paraprobiotic (*L. rhamnosus*) and symbiotic (*L. rhamnosus* viable + inactive) showed potential height of the intestinal villi. The diets with paraprobiotic (*L. rhamnosus*) and synbiotic (*L. rhamnosus* viable + inactive) showed potential to improve the relationship between weight and length.

Keywords: morphometry, essential oil, probiotic, paraprobiotic

"Na vida, não existe nada a temer,
mas a entender"
(Marie Curie)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Figura 1. Efeitos das bactérias não patogênicas no trato intestinal 10

Artigo 1. Crescimento alométrico de piraputangas *Brycon hilarii* produzidas em hapas

Figura 1. Medidas biométricas de juvenis de piraputangas *Brycon hilarii* cultivados em hapas. CT comprimento total, CP comprimento padrão, Acab altura da cabeça, Ccab comprimento da cabeça, Acor altura do corpo e Lcor largura do corpo. 31

Figura 2. Crescimento em peso (médio) de piraputangas *Brycon hilarii* em função do tempo de produção..... 33

Figura 3. Diagrama de dispersão da relação peso-comprimento de juvenis de piraputangas *Brycon hilarii* produzidos em hapas por 210 dias..... 36

Figura 4. Valores individuais do fator de condição relativo (Kn) em relação ao peso de

Artigo 2. Óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753) no transporte de *Brycon hilarii*

Figura 1. Composição percentual do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (OG EO) determinada por cromatografia gasosa-massa espectrometria (GC-MS). 45

Figura 2. Médias (+SD) para hemoglobina e os índices hematimétricos CHCM e HCM de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água..... 50

Artigo 3. *Lactobacillus rhamnosus* viáveis e inativos na dieta melhora a morfologia intestinal de dourados *Salminus brasiliensis*

Figura 1. Índices hematimétricos CHCM, CHM e VCM de dourado (*S. brasiliensis*) alimentados com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobótico (*L. rhamnosus* inativos), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e depois infecção com *A. hydrophila*..... 83

Figura 2. Níveis de glicose em dourado (*S. brasiliensis*) alimentados com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobótico (*L. rhamnosus*), simbiótico (probiótico + paraprobótico) e dieta controle (sem aditivo) antes e depois infecção com *A. hydrophila*. 83

Figura 3. Atividade respiratória de leucócitos em dourado (<i>S. brasiliensis</i>) alimentados com probiótico (<i>L. rhamnosus</i>), paraprobiótico (<i>L. rhamnosus</i>), simbiótico (probiótico + paraprobiótico) e dieta controle (sem aditivo) antes e depois infecção com <i>A. hydrophila</i>	84
Figura 4. Taxa de sobrevivência de juvenis de dourado (<i>Salminus brasiliensis</i>) até 7 dias após infecção por <i>A. hydrophila</i>	84

LISTA DE TABELAS

Artigo 1. Crescimento alométrico de piraputangas *Brycon hilarii* produzidas em hapas

Tabela 1. Análise descritiva, média, desvio padrão (DP), valor mínimo e máximo e coeficiente de variação (CV) das variáveis biométricas de juvenis de piraputangas *Brycon hilarii* cultivados em hapas (n=108). 32

Tabela 2. Equações de regressão para as relações entre variáveis morfométricas de juvenis de piraputangas *Brycon hilarii* produzidos dias em hapas durante 210. 37

Artigo 2. Óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753) no transporte de *Brycon hilarii*

Tabela 1. Características da qualidade da água e sobrevivência antes e após o transporte (duas horas) de *Brycon hilarii* em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água. 49

Tabela 2. Médias (+SD) da contagem diferencial e total de leucócitos de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água.. ... 51

Tabela 3. Médias (+SD) dos compostos residuais do plasma de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água. 52

Tabela 4. Médias (+SD) dos compostos residuais do filé de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água..... 53

Tabela 5. Médias (+SD) dos compostos residuais do fígado de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água..... 54

Artigo 3. *Lactobacillus rhamnosus* viáveis e inativos na dieta melhora a morfologia intestinal de dourados *Salminus brasiliensis*

Tabela 1. Composição química da ração comercial 73

Tabela 2. Presença de probiótico *Lactobacillus rhamnosus* em amostras das dietas experimentais de dourado. 73

Tabela 3. Desempenho zootécnico de dourado (<i>S. brasiliensis</i>) alimentado com probiótico (<i>L. rhamnosus</i>), paraprobótico (<i>L. rhamnosus</i>), <i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo).....	78
Tabela 4. Parâmetros hematológicos de dourado (<i>S. brasiliensis</i>) alimentado com probiótico (<i>L. rhamnosus</i>), paraprobótico (<i>L. rhamnosus</i>), <i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e após infecção com <i>A. hydrophila</i>	80
Tabela 5. Contagem diferencial de leucócitos de dourado (<i>S. brasiliensis</i>) alimentado com probiótico (<i>L. rhamnosus</i>), paraprobótico (<i>L. rhamnosus</i>), <i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e depois da infecção com <i>A. hydrophila</i>	81
Tabela 6. Contagem total de dourado (<i>S. brasiliensis</i>) alimentados com probiótico (<i>L. rhamnosus</i>), paraprobótico (<i>L. rhamnosus</i>), <i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e após infecção com <i>A. hydrophila</i>	82
Tabela 7. Parâmetros histomorfométricos do intestino de dourados (<i>S. brasiliensis</i>) alimentados com probiótico (<i>L. rhamnosus</i>), paraprobótico (<i>L. rhamnosus</i>), <i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo)	86
Tabela 8. Parâmetros histomorfométricos dos hepatócitos de dourados (<i>S. brasiliensis</i>) alimentados com probiótico (<i>L. rhamnosus</i>), paraprobótico (<i>L. rhamnosus</i>), <i>L. rhmanosus</i> (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo)	87

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1.1 Introdução	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Peixes nativos	3
2.2 Crescimento alométrico.....	4
2.3 Óleos essenciais	5
2.4 Probiótico	7
2.5 Paraprobióticos	10
3. OBJETIVOS	12
3.1 Objetivo Geral.....	12
3.2 Objetivos Específicos	12
4. REFERÊNCIAS	13
ARTIGO 1. CRESCIMENTO ALOMÉTRICO DE PIRAPUTANGAS <i>BRYCON HILARII</i> PRODUZIDAS EM HAPAS	26
Resumo	26
Abstract.....	27
1. Introdução	28
2. Material e Métodos.....	29
2.1. Animais e condição amostral.....	29
2.2. Variáveis biométricas.....	29
2.3. Análise biométrica e estatística	31
3. Resultados e Discussão.....	32
4. Referências	37
ARTIGO 2. ÓLEO ESSENCIAL DE <i>OCIMUM GRATISSIMUM</i> (LINNAEUS, 1753) NO TRANSPORTE DE <i>BRYCON HILARII</i>.....	41
Resumo	41
Abstract.....	42
1. Introdução	43
2. Material e métodos.....	44
2.1 Animais e condições experimentais.....	44
2.2 Óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> e transporte.....	45
2.3 Colheita sanguínea e análises.....	46
2.4 Glicose e parâmetros hematológicos	46
2.5 Compostos residuais no plasma, filé e fígado	46
2.6 Qualidade da água do transporte	48
2.7 Estatística.....	48
3. Resultados.....	48

3.1 Qualidade de água e mortalidade	48
3.2 Parâmetros sanguíneos	49
4. Discussão.....	55
5. Referencias	59
ARTIGO 3. LACTOBACILLUS RHAMNOSUS VIÁVEIS E INATIVOS NA DIETA MELHORA O FATOR DE CONDIÇÃO DE DOURADOS SALMINUS BRASILIENSIS	67
Resumo.....	67
Abstract	69
1. Introdução	70
2. Material e métodos	72
2.1. Declaração de ética.....	72
2.2. Dieta experimental	72
2.3 Animais e condições experimentais	73
2.4. Desempenho zootécnico.....	74
2.5 Preparação da bactéria <i>Aeromonas hydrophila</i>	74
2.6 Colheita sanguínea	75
2.7 Parâmetros sanguíneos.....	75
2.8 Análise histomorfométrica do intestino e fígado	76
2.9 Estatística.....	77
3. Resultados	77
3.1 Desempenho zootécnico.....	77
3.2 Parâmetros sanguíneos	78
3.3 Histomorfometria do intestino e fígado.....	85
4. Discussão.....	88
5. Referências	93

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta um grande potencial para aquicultura, uma vez que possui uma grande costa marítima e reservatórios de água doce, clima favorável para crescimento dos organismos, disponibilidade de terra e crescente demanda por pescado no mercado interno (VALENTI et al., 2021). O estado de Mato Grosso do Sul é drenado por duas bacias, Alto Paraná que representa 47,46% da área do estado e pela bacia do rio Paraguai com 52,54% da área (ZEE-MS, 2009). Inúmeras espécies com alto potencial produtivo são encontradas na bacia do rio Paraguai, tais como, curimba (*Prochilodus Lineatus*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*), cachara (*Pseudoplatystoma reticulam*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), dourado (*Salminus brasiliensis*) e piraputanga (*Brycon hilarii*).

A piraputanga é uma espécie reofílica e pode ser encontrada em diversas pisciculturas do país. É conhecida por apresentar boa qualidade de carne, podendo alcançar 56 cm de comprimento e pesar até 3,360 g (ZANIBONI FILHO; TATAJE; WEINGARTNER, 2006). O dourado *Salminus brasiliensis* é outra espécie com grande importância econômica e social para a pesca artesanal, de subsistência e esportiva, devido sua agressividade e voracidade é muito apreciada pelos pescadores (SCORVO-FILHO, AYROSA, 1996; WEINGARTNER; ZANIBONI-FILHO, 2005). Nos últimos anos a pesca dessa espécie foi proibida, devido a redução das populações nas áreas de distribuição natural, com isso, tem-se buscado tecnologias para melhorar a sua produção em cativeiro. Atualmente, o dourado é muito utilizado no controle de espécies exóticas, como a tilápia, porém, assim como a piraputanga o dourado é muito sensível ao manejo e pouco se sabe da biologia de cultivo e questões básicas do sistema de produção como nutrição, perfil hematológico e resistência contra patógenos. Esses parâmetros, junto com as boas práticas de manejo, são importantes para o sistema de produção.

Boas práticas de manejo associadas a qualidade de água adequada a produção e dieta equilibrada e de qualidade são essenciais para o sucesso da produção, no entanto, com o aumento da produção de pescado e a intensificação dos sistemas produtivo, os peixes se tornam vulneráveis às doenças infecciosas

(ROMERO et al., 2012) e muitas vezes se faz o uso indiscriminado de antimicrobianos. Com isso, estudos buscam métodos alternativos naturais e sustentáveis ao uso de antimicrobianos que podem causar resistência bacteriana e imunossupressão (GASTALHO; SILVA; RAMOS, 2014; WATTS et al., 2017), acúmulo de resíduos de antibióticos são encontrados no tecido e no ambiente dos peixes, e isso pode gerar problemas para a saúde humana e animal (BARMAN et al., 2013). A adoção de medidas preventivas para melhorar a nutrição, resposta imune e resistência às doenças tornaram-se aliadas aos sistemas de produção.

O uso de aditivos dietéticos tem sido amplamente explorado para reforçar o estado de saúde e o desempenho produtivo e fortalecer o sistema imunológico de peixes. Diversas pesquisas testaram a eficácia de aditivos como: antioxidantes (IBRAHEM et al., 2010; HAMRE et al., 2016); plantas ou extratos vegetais (SOARES et al., 2020; ZANUZZO et al., 2014); óleos essenciais na dieta ou na água de transporte (BRUM et al., 2017; ALMEIDA et al., 2021; BOAVENTURA et al., 2021; SILVA et al., 2021); glucanos (PILARSKI, et al., 2017; CHING et al., 2021); prebióticos (CAMPOS et al., 2021; MOHAMMADIAN et al., 2021) e probióticos (RODILES et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2019).

O desempenho produtivo pode ser avaliado pelo ganho de peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar aparente, entre outras, e é uma prática comumente usada para testar o quanto um peixe pode ser promissor nos sistemas de produção, sendo de fundamental importância na produção animal. As avaliações corporais são informativas, pois nela condensa as informações de parâmetros morfométricos (GOMIERO et al., 2009), que auxiliam na investigação de relações matemáticas entre duas características (SHANMUGAM et al., 2000; NOWAK et al., 2009), ampliando o conhecimento sobre a relação de crescimento em diversos ambiente. Diante disso, o presente estudo visa compreender alguns aspectos produtivos como o crescimento alométrico e o uso de aditivos na produção e transporte de peixes nativos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Peixes nativos

A produção de peixes nativos em 2020 foi de 278.671 t, equivalente a 34,7% da produção nacional (PEIXE BR, 2021), sendo ainda uma produção pequena comparada as espécies exóticas. Entre os maiores produtores estão Rondônia (65.000 t), seguido do Mato Grosso (42.000 t), Maranhão (40.800 t), sendo o tambaqui o peixe nativo mais produzido (PEIXE BR, 2021). Entretanto, o Brasil possui inúmeras espécies nativas com potencial para produção como tambaqui (*Colossoma macropomum*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*), surubins (*Pseudoplatystoma* sp), pirarucu (*Arapaimas gigas*), piraputanga (*Brycon hilarii*) e dourado (*Salminus brasiliensis*) (DELA FLORA et al., 2010), porém muitas dessas espécies ainda falta aporte científico e tecnológico para produção em grande escala (OSTRENSKY et al., 2008).

O dourado *Salminus brasiliensis*, pertence a ordem dos peixes characiformes (BRITSKI et al., 2007), apresenta coloração amarelo-dourado no corpo e nadadeiras alaranjadas, ampla distribuição geográfica e é topo de cadeia alimentar devido ao habito alimentar carnívoro (ESTEVES; PINTO LOBO, 2001). Em função do instinto predador e agressivo o dourado é muito apreciado na pesca esportiva e pelas características organolépticas, como qualidade e sabor de sua carne (KUBITZA, 2017). Na produção possui crescimento rápido, alto valor agregado, rusticidade, fácil adaptação e boa aceitação de alimentação artificial, apesar de ser uma espécie altamente carnívora, com tendência a canibalismo, sua larvicultura é realizada com sucesso após o treinamento alimentar (WEINGARTNER; ZANIBONI FILHO, 2013), no entanto sofrem grande estresse com o manejo (MEURER et al., 2008).

No gênero *Brycon* são encontradas mais de 40 espécies, sendo considerado um dos principais de água doce (LIMA, 2003). A piraputanga é originária da bacia do Prata, mas pode ser encontrada no médio Paraná e em toda bacia do rio Paraguai (SANCHES et al., 2007), possui habito alimentar onívoro, mas sua espécie é conhecida como oportunista, pois não apresenta seletividade alimentar (REYS et al., 2008). Gosta de habitar água claras, por isso é atração ecoturística da região de Bonito, MS (SABINO; ANDRADE, 2003), e são muito apreciadas na pesca comercial

devido a qualidade da carne. Ambas as espécies, dourado e piraputanga, são muito conhecidas no estado do Mato Grosso do Sul, principalmente devido ao apreço na pesca, no entanto, existem poucos estudos sobre essas espécies. Nos últimos anos a produção de peixes nativos vem sendo incentivada com o intuito de preservá-los e manejá-los de forma adequada, porém sua produção ainda é pouca expressiva e conhecer a espécie de cultivo é essencial para se iniciar uma produção

Na piscicultura, o monitoramento dos parâmetros de qualidade de água, despesca, transporte de peixes (para troca de tanque ou venda) e biometrias são práticas corriqueiras. As biometrias são importantes para avaliar o estado de saúde e monitorar o crescimento dos animais, pois por meio dos parâmetros de desempenho é possível obter dados de ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento, fator de condição, entre outros parâmetros de desempenho produtivo.

2.2 Crescimento alométrico

As mudanças de tamanho e forma de um animal podem ser estudadas por meio do crescimento alométrico. Essas características auxiliam no desenvolvimento da piscicultura em diversos aspectos da produção (SILVA, 2019). A produção de carne depende quase que exclusivamente do crescimento, que é um fator indispensável na cadeia produtiva, por isso, os conhecimentos básicos do crescimento animal fazem-se necessários para a sua aplicação direta, visando uma maior eficiência de produção (SANTOS, 1999)

O crescimento do animal pode ser considerado como um aumento na massa dos tecidos estruturais e órgãos, acompanhado por uma mudança na forma ou composição, resultante do crescimento diferencial das partes que compõem o corpo do indivíduo (ELIAS, 1998).

A alometria está relacionada a escala de parâmetros das proporções, morfométricas e químicas do animal, devido ao aumento do mesmo, dessa forma, conservando a relação entre peso com peso e não do tempo necessário para alcançá-lo (GOMIERO et al., 2009, 2009; BASSANEZI; DINIZ, 2015). O principal objetivo desta avaliação alométrica é compreender parte das diferenças quantitativas entre os animais, bem como, considerar um fator eficaz para análise de carcaça e seus componentes, estimando os padrões de desempenho dos cortes (GARCIA, 2006),

aspectos biológicos (LAXMILATHA, 2008), adaptação e desenvolvimento em diferentes ambientes (SAIKIA, 2012), entre outros

O crescimento alométrico refere-se a taxas diferenciais de crescimento de duas características mensuráveis de um organismo, muitas vezes descrito como alterações/transformações da morfologia correlacionadas com a dimensão (BASSANEZI; DINIZ, 2015). É calculada pela equação alométrica de HUXLEY (1932) $Y = aX^b$, porém é necessário a transformação logarítmica dessa equação para análises estatísticas.

A transformação logarítmica converte a equação exponencial em uma regressão linear simples, dada por $\ln Y = \ln a + b \ln X$, em que “Y” é o peso do tecido ou órgão; “X” é o peso de outra porção ou de todo o organismo, “a” é a intercepção do logaritmo da regressão linear sobre Y e “b” o coeficiente de crescimento alométrico relativo, ou o coeficiente de alometria, que é a velocidade relativa de crescimento de “Y” em relação a “X”.

Existem diferentes tipos de crescimento, em relação ao comprimento total, sendo que se o resultado encontrado pela equação for maior que 3,0, o incremento em peso é maior do que o incremento em comprimento total (crescimento alométrico positivo). Se o valor for inferior a 3,0, o incremento é maior em comprimento total do que no peso (crescimento alométrico negativo). No caso de isometria, o peixe sofreu incremento iguais nas dimensões (YANKOVA et al., 2011; TAH et al., 2012).

2.3 Óleos essenciais no transporte de peixes

Na aquicultura e na maioria das áreas do conhecimento atuais, o mercado de produtos naturais apresenta crescimento favorável, em que utilização de óleos essenciais ocupa uma posição de destaque. Os óleos essenciais são compostos naturais, voláteis e complexos, formados por hidrocarbonetos e álcoois, substâncias odoríferas e líquidas, obtidas a partir de vegetais crus (EDRIS, 2007; BAKKALI et al., 2008; SWAMY et al., 2016), encontradas nas partes das plantas como as raízes, folhas, caules, flores e frutos, porém em grandes quantidades são feitos os extratos botânicos ou os óleos a partir de hidro destilação.

Diversos estudos tem investigado o uso de óleos essenciais como anestésicos naturais para peixes, óleos de cidreira *Lippia alba* em tambaqui *Colossoma*

macropomum (Santos Batista et al. 2018), alfavaca cravo *Ocimum gratissimum* em cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* (SILVA et al. 2020), manjeriço *Ocimum basilicum* em tilápias (VENTURA et al., 2020), erva-santa *Aloysia gratissima* em linguado *Paralichthys orbignyanus* (BENOVIT et al., 2012) e melaleuca *Melaleuca alternifolia* em *Amphiprion clarkii* (CORREIA et al., 2018). Neste cenário, o uso de óleos essenciais nos diferentes manejos na piscicultura tem ganhado cada vez mais espaço para operações de manejos, como por exemplo o óleo de cravo.

O óleo de cravo é extraído da planta cravo da Índia, sendo seu composto majoritário o eugenol, sendo esse um dos únicos anestésicos liberados para o uso em peixes destinados ao consumo humano nos Estados Unidos pelo Food and Drug Administration - FDA (agência norte-americana reguladora de drogas e alimentos). É o anestésico para peixe mais difundido em todo mundo, porém apresenta custo elevado e após o uso em peixes, o tempo de depuração é de 21 dias (ROUBACH e GOMES, 2001).

Ademais, o manejo de transporte de peixes vivos é uma prática necessária e comum na produção de peixe, podendo ser utilizado para pequena distância, no caso de transporte de peixes para laboratório de reprodução e transferência de tanques, ou, longa distância quando os peixes são comercializados vivos. Há diversas técnicas de transporte, indicadas para peixes pequenos é o sistema fechado consiste em sacos plásticos contendo água e oxigênio dissolvido, na proporção de 1:2, esses sacos são vedados para não ocorrer saída de ar, para melhor proteção e controlar a temperatura esses sacos podem ser dispostos em caixa de papelão. Já o sistema aberto, é indicado para peixes maiores e também pequenos, é realizado em caixas específicas para transportes de peixes, essas caixas recebem água e devem ser dotadas de bombas para aeração constante que podem ser controladas (BERKA, 1986; LIM et al., 2003).

Os dejetos e excretas dos peixes são os principais responsáveis da piora da qualidade da água durante o transporte, por isso a utilização do jejum de pelo menos 24h é essencial em todos os tipos de transportes, e são medidas que se não realizadas podem prejudicar os parâmetros físico-químicos da água (BALDISSEROTTO, 2002). O parâmetro de qualidade de água mais importante a ser mantido durante o transporte é o oxigênio dissolvido, que está relacionado com outras variáveis como a temperatura da água e densidade de estocagem (LIM et al., 2003).

A concentração do dióxido de carbono é outro aspecto importante no transporte, pois a respiração dos peixes resulta na excreção de CO₂ na água, e em concentração elevada pode acidificar a água do transporte e/ou esse resíduo metabólico pode-se acumular no sangue dos peixes, levando a acidificação sanguínea que afeta o transporte de oxigênio pelo efeito Root (a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio é menor em meios de pH mais baixos) (RANDALL e LINN, 1993; MACINTYRE et al., 2008).

O transporte é certamente um dos principais problemas que afeta a homeostase dos peixes, pois os animais sofrem diversos fatores estressantes e a queda na qualidade da água pode afetar diversos aspectos fisiológicos dos peixes podendo causar até mortalidade (BARTON, 2002; SAMPAIO; FREIRE, 2016; SHABANI et al., 2016). O uso de aditivos naturais pode ser uma alternativa para melhorar a resistência dos peixes frente a situações adversas. A eficácia dos óleos essenciais durante o transporte de peixes foi comprovada por alguns autores que relataram efeito sedativo, menor excreção de amônia e gasto de oxigênio, e melhora no estado imunológico e na vida útil da carne do peixe (BENOVIT et al., 2012; ZEPPEFELD et al., 2014; BARBAS et al., 2020; MOOSAVI-NASAB et al., 2020; BOAVENTURA et al., 2021).

2.4 Probiótico

O termo "probióticos" originado do grego, significa "pró-vida", sendo antônimo de antibiótico que significa "contra-vida" (PARKER, 1974). Segundo a FAO, probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos, que administrados em quantidades adequadas conferem benefício à saúde do hospedeiro (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, FAO, 2001). Segundo Gatesoupe (1999), os probióticos são células microbianas específicas que entram no trato gastrointestinal e são capazes de manterem-se vivas, reforçando a saúde dos animais e auxiliando na recomposição da microbiota intestinal. Após a administração, esses microrganismos são capazes de colonizar e se multiplicar no intestino do hospedeiro, modulando vários sistemas biológicos e restaurando o equilíbrio microbiótico (DAWOOD et al., 2019; EL-SAADONY et al., 2021). Alguns efeitos das bactérias não patogênicas estão apresentados na Figura 1.

MERRIFIELD et al. (2010) propuseram uma definição distinta de probióticos, dada a natureza da piscicultura e a relação mais próxima com o meio aquático: “Probiótico é qualquer célula microbiana fornecida pela dieta ou água de criação que beneficie o peixe (hospedeiro), produtor ou consumidor de peixe, melhorando o equilíbrio microbiano do peixe”. Deste modo, os benefícios diretos ao hospedeiro são a imunestimulação, a melhora da resistência a doenças, a redução da resposta ao estresse, e a melhora da morfologia intestinal. Os benefícios para o produtor ou para o consumidor são a melhora do apetite dos peixes, desempenho do crescimento e utilização dos alimentos, melhora na qualidade da carcaça e a redução das malformações.

Os probióticos podem ser agrupados de acordo com as características dos microrganismos, os principais grupos são: Aeróbicos (*Bacillus*); anaeróbicos (*Clostridium*); bactérias ácido-láticas (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*) e leveduras (*Streptococcus*) (TEIXEIRA, 2001). Entretanto, deve ressaltar que cada cepa tem propriedades específicas e o efeito probiótico de cada cepa não deve ser extrapolado para outras cepas (BURITI; SAAD, 2007).

O modo de ação dos probióticos ainda não foi completamente esclarecido, embora tenham sido sugeridos vários processos que podem atuar independentemente ou associados (COPPOLA; TURNES, 2004). Os principais mecanismos de ação são:

Produção de compostos inibitórios: os probióticos produzem e liberam compostos inibidores que desempenham um papel importante na prevenção de doenças. (TINH et al., 2007; SUGITA et al., 2009). Como a alteração do pH intestinal que não favorece as bactérias patogênicas.

Exclusão competitiva: as bactérias probióticas competem com os patógenos por nutrientes, sítios de adesão e pela colonização do intestino, A adesão de patógenos na parede do intestino pode causar grandes danos ao hospedeiro (BALCAZAR et al, 2006; LAZADO et al., 2011). Ghosh et al. (2008) relataram que *Bacillus subtilis* reduziu significativamente quantidade de *Aeromonas*, *Pseudomonas* e Coliformes totais peixes ornamentais.

Modulação das respostas imunes: o sistema imunológico não específico pode ser estimulado por probióticos, melhorando a resistência natural e a capacidade de sobrevivência dos peixes (HOSEINIFAR et al., 2018; MOHAPATRA et al., 2013).

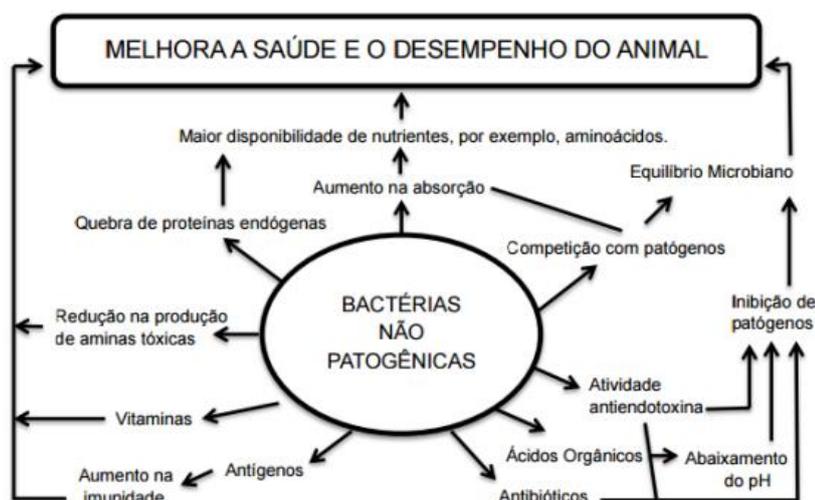
Lactobacillus plantarum isolado de intestinos de bagres híbridos (*Clarias gariepinus* × *Clarias macrocephalus*) quando adicionado à dieta melhorou a resposta imune inata e a resistência a doenças em bagres híbridos (BUTPROM; PHUMKHACHORN; RATTANACHAIKUNSOPON, 2013).

Melhoria da qualidade da água: os probióticos quando adicionados na água podem atuar como biorremediadores e biocontroladores. Os biorremediadores são usados na aquicultura para combater os efluentes produzidos nos sistemas de produção e melhorar a qualidade de água. Os biocontroladores tem a capacidade de reduzir a concentração dos agentes patogênicos no ambiente de produção (ANTONY; PHILIP, 2006).

Os probióticos aplicados na água do sistema de criação ajudam a aumentar as espécies microbianas do ambiente melhorando a qualidade da água (BALCAZAR et al., 2006). Foi comprovado que bactérias gram-positivas agem beneficemente na melhoria da qualidade água do sistema, convertendo matéria orgânica em dióxido de carbono e mantém o pH e oxigênio dissolvido em níveis ideais para camarão (AGUIRRE-GUZMAN et al., 2012). Outros probióticos podem agir corrigindo os problemas de toxicidade causados pela amônia e nitrito, por meio do fornecimento de culturas de bactérias nitrificantes (MOHAPATRA et al., 2012).

Promover o equilíbrio da microbiota intestinal: uma das características mais importantes dos probióticos é de aderir e proliferar no local específico (MOHAPATRA et al., 2012), sendo considerado um pré-requisito para a colonização, atividade antagônica contra enteropatógenos e modulação do sistema imune (BUSANELLO et al., 2012). Probiótico *Bacillus subtilis* adicionado na dieta de tilápia aumentou o número de comunidades de bactérias autóctones no intestino (HE et al., 2013)

Muitos estudos investigaram os benefícios do modo de ação dos probióticos, porém sua viabilidade depende das condições de armazenamento e muitas bactérias probióticas perdem sua viabilidade durante o armazenamento (NAYAK, 2010). E uma das grandes preocupações de se utilizar cepas vivas é a possibilidade de transferência do gene de virulência de um patógeno para microrganismos probióticos no ambiente aquático (NEWAJ-FYZUL; AL-HARBI; AUSTIN, 2014). Diante disso, o uso de microrganismos não viáveis tem sido abordado em estudos recentes, pois também fornecem benefícios a saúde.



Fonte: Torres (2014)

Figura 1. Efeitos das bactérias não patogênicas no trato intestinal.

2.5 Paraprobióticos

O termo “paraprobiótico” anteriormente era referido aos probióticos inativos ou probióticos fantasmas e pósprobióticos definido como produtos bacterianos não viáveis ou subprodutos metabólicos de microrganismos probióticos que tem atividade biológica no hospedeiro (TSILINGIRI; RESCIGNO, 2013; TSILINGIRI et al., 2012). Atualmente, paraprobiótico é usado para células microbiana não viáveis (intactas ou quebradas) ou frações celulares (com composição química complexa) quando administrada adequadamente pode conferir benefício à saúde e bem-estar do ser humano ou animais (TAVERNITI; GUGLIELMETTI, 2011). Estudos averiguaram que os paraprobióticos são capazes de modular o sistema imunológico, pois compostos da parede celular podem aumentar a sistema imunológico, a adesão às células intestinais pode ser aumentada, resultando em maior inibição de patógenos e secreção de vários metabólitos (ALMADA et al., 2016)

A atividade imunomoduladora dos paraprobiótico pode ser influenciada pelo método de inativação do microrganismo, que pode ser por métodos físicos (calor, radiação, ultravioleta, alta pressão, liofilização) ou química (Desativação ácida), porém a escolha mais apropriada vai depender do microrganismo escolhido, pois cada método atingi estrutura e funções metabólicas diferentes (ALMADA et al., 2016; TAVERNITI; GUGLIELMETTI, 2011).

O potencial do paraprobiótico em estimular o sistema imunológico foi relatado em vários estudos, por meio do aumento da atividade fagocítica e burst respiratório (ROMÁN et al., 2012), maior complemento hemolítico e níveis de imunoglobulinas (YAN et al., 2016), aumento da atividade lisozima sérica, fosfatase alcalina e proteína sérica (SINGH et al., 2017). Outro benefício que o uso de paraprobiótico pode conferir ao hospedeiro, é a melhora o sistema imunológico contra doenças causadas por patógenos. Os mecanismos de inibição contra os patógenos não são muito claros, mas supõem que a imunoestimulação é o principal modo de ação que confere resistência do hospedeiro contra microrganismos patogênicos (CHOUDHURY, KAMILYA, 2019). Em estudo, paraprobiótico *Bacillus subtilis* (inativado com formalina) adicionados a dieta, aumentou a capacidade de sobrevivência da truta arco-íris desafiados experimentalmente com *Aeromonas* sp. (NEWAJ-FYZUL et al. 2007). Bactéria ácido láctico inativada pelo calor e incubada com *Vibrio anguillarum*, inibiu significativamente o crescimento de patógenos (VILLAMIL et al., 2002).

No intestino coexistem microrganismos que em equilíbrio com o hospedeiro e essa microbiota intestinal é responsável por muitos processos metabólicos, nutricionais, fisiológicos e imunológicos do corpo humano, principalmente pela absorção de energia da dieta. Paraprobiótico *Lactococcus* ssp. na dieta de camundongos atuou na supressão do crescimento de bactérias intestinais nocivas e reduziu a inflamação e os danos intestinais causados pela colite induzida, no entanto, o mecanismo de ação ainda não está claro (ALMADA et al., 2016). Diante disso, as evidências de que os paraprobióticos são capazes melhorar a saúde e respostas biológicas do hospedeiro por meio de diversas ações.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- O estudo teve como objetivo compreender alguns aspectos produtivos como o crescimento alométrico e o uso de aditivos na produção e transporte de peixes nativos.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar o padrão de crescimento alométrico das medidas corporais de juvenis de piraputangas (*Brycon hilarii*) produzidas em hapas dentro de viveiro escavado.
- Investigar o efeito do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* na qualidade de água, nos parâmetros sanguíneos e verificar se ocorre resíduos dos compostos do OE OG em *Brycon hilarii* submetidos ao transporte de duas horas.
- Analisar o potencial da bactéria *Lactobacillus rhamnosus* como probiótico e paraprobiótico (inativo) e sua associação sobre o desempenho produtivo, estado de saúde e a resistência do dourado (*Salminus brasiliensis*) infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*.

4. REFERÊNCIAS

AGUIRRE-GUZMAN G.; LARA-FLORES M.; SANCHEZ-MARTINEZ J. G.; CAMPA-CORDOVA A. I.; LUNA-GONZALEZ A. The use of probiotics in aquatic organisms: a review. **Afr J Microbiol Res**, v. 6, n. 23, p. 4845-4857, 2012. DOI 10.5897/AJMR11.1038

ALMADA, C. N.; ALMADA, C. N.; MARTINEZ, R. C. R.; SANT'ANA, A. S. Paraprobiotics: evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 58, p. 96–114, 2016. DOI 10.1016/j.tifs.2016.09.011.

ALMEIDA, R. G. S.; MARTINS, M. A.; OLIVEIRA, F. C.; SANTO, F. E.; CALVES, G. S.; PILARSKI, F. CHAGAS, E. C.; FERNANDES, C. E.; MARTINS, M. L.; CAMPO, C. M. Dietary supplementation of ginger (*Zingiber officinale*) essential oil exhibits positive immunomodulatory effects on the Neotropical catfish *Pseudoplatystoma reticulatum* without negative effects on fish liver histomorphometry. **Lat. Am. J. Aquat Res**, v. 49, n. 4, p. 595-607, 2021. DOI:10.3856/vol49-issue4-fulltext-2667

ANTONY, S. P.; PHILIP, R. Bioremediation in Shrimp Culture Systems: NAGA. **World Fish Center Quarterly**, v. 29, n. 3, 2006.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. et al. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BALCAZAR, J. L.; BLAS, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; CUNNINGHAM, D.; VENDRELL, D.; MUÚZQUIZ, J. L. The role of probiotics in aquaculture. **Vet Microbiol**, v. 114, p. 173-186, 2006.

BALDISSEROTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: editora UFSM. 212p, 2001.

BARBAS, L. A. L.; DE ARAÚJO E. R. L.; TORRES, M. F.; MALTEZ, L. C.; GARCIA, L. O.; HEINZMANN, B. M.; SAMPAIO, L. A. Stress relieving potential of two plant-based sedatives in the transport of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 520, p. 734681, 2020.

BARMAN, D.; NEN, P.; MANDAL, S. C.; KUMAR, V. Aquaculture Health Management: A new Approach. **J. Marine Sci. Res. Dev**, p. 2-4, 2013.

BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integr. Comp. Biol.**, v. 42, n. 3, p. 517-525, 2002.

BUSANELLO, M.; SOARES, M. S. P.; BARROS, P. C.; CHAMBO, A. P. S.; ECKSTEIN, I. I. Probióticos, seus modos de ação e a produção animal. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 4, p. 14-24, 2012.

BASSANEZI, R. C.; DINIZ, M. M. Um estudo sobre crescimento em peso do tambaqui com modelagem fuzzy. **Proceeding Series of the Brazilian Society of Computational and Applied Mathematics**, v. 3, n. 1, 2015.

BENOVIT, S. C.; GRESSLER, L. T.; DE LIMA SILVA, L.; DE OLIVEIRA GARCIA, L.; OKAMOTO, M. H.; DOS SANTOS PEDRON, J.; SAMPAIO, L. A.; RODRIGUES, R. V.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. anesthesia and transport of brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with essential oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 43, n. 6, p. 896–900, 2012. DOI 10.1111/j.1749-7345.2012.00604.x.

BERKA, R. The transport of live fish: a review. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. n. 48, 1986.

BOAVENTURA, T. P.; SOUZA, C. F.; FERREIRA, A. L.; FAVERO, G. C.; BALDISSERA, M. D.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B.; LUZ, R. K. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophiosilurus alexandri*:

water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress. **Aquaculture**, v. 531, p. 735964, 2021. DOI 10.1016/j.aquaculture.2020.735964.

BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. Z. S.; LOPES; B. S. **Peixes do Pantanal**: manual de Identificação. Brasília, Embrapa, 2007. 230 p.

BRUM, A.; PEREIRA, S. A.; OWATARI, M. S.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; MOURIÑO, J. L. P.; MARTINS, M. L. Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. **Aquaculture**, v. 468, p. 235–243, 2017. DOI 10.1016/j.aquaculture.2016.10.020.

BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Bactérias do grupo *Lactobacillus casei*: caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. **ALAN**, v. 57, n. 4, p. 373-377, 2007.

BUTPROM, S.; PHUMKHACHORN, P.; RATTANACHAIKUNSOPON, P. Effect of *Lactobacillus plantarum* C014 on innate immune response and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in hybrid catfish. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1-6, 2013. DOI 10.1155/2013/392523.

CAMPOS, C. M.; ZANUZZO, F. S.; GIMBO, R. Y.; FAVERO, G. C.; SOARES, M. P.; PILARSKI, F.; URBINATI, E. C. Dietary inulin modulated the cortisol response and increased the protection against pathogens in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture Research**, v. 53, n. 3, p. 860–869, 2021. DOI 10.1111/are.15626.

CHING, J. J.; SHUIB, A. S.; ABDUL MAJID, N.; MOHD TAUFEEK, N. Immunomodulatory activity of β -glucans in fish: relationship between β -glucan administration parameters and immune response induced. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 5, p. 1824–1845, 2021. DOI 10.1111/are.15086.

CHOUDHURY, T. G.; KAMILYA, D. Paraprobiotics: an aquaculture perspective. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 4, p. 1258–1270, 2019. DOI 10.1111/raq.12290.

CIRNE, L. G. A.; DE SOUZA, S. W.; FELTRAN, R. B.; PEREIRA, S. L. A.; GOMES, F. E.; MELO, D. R.; BRITO, P. F.; DA SILVA, J. R. Características morfológicas e da carcaça de tabaco abatidos com diferentes pesos. **MAGISTRA**, v. 30, p. 160-167, 2019.

COLLINS, D. M.; GILBSON, G. R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 5, p. 1052-1057. Ddoi.org/10.1093/ajcn/69.5.1052s.

COPPOLA, M .M.; TURNES, C. G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

CORREIA, A. M.; PEDRAZZANI, A. S.; MENDONÇA, R. C.; MASSUCATTO, A.; OZÓRIO, R. A.; TSUZUKI, M. Y. Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830). **Braz. J. Biol.**, v. 78, n. 3, p. 436-442, 2018. DOI.org/10.1590/1519-6984.166695

DANIELS, C. L.; MERRIFIELD, D. L.; BOOTHROYD, D. P.; DAVIES, S. J.; FACTOR, J. R.; ARNOLD, K. E. Effect of dietary *Bacillus* spp. and mannan oligosaccharides (MOS) on European lobster (*Homarus gammarus* L.) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota. **Aquaculture**, v. 304, n. (1-4), p. 49–57, 2010. Doi:10.1016/j.aquaculture.2010.03.018.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; ABDEL-DAIM, M. M.; VAN DOAN, H. Probiotic application for sustainable aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 907–924, 2019. DOI 10.1111/raq.12272.

DELLA FLORA, D. A.; MASCHKE, F.; FERREIRA, C. C.; PEDRON, F. D. A. Biologia e cultivo do dourado (*Salminus brasiliensis*). **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 7–14, 2010. DOI 10.21708/avb.2010.4.1.1492.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytother. Res**, v. 21, n. 4, p. 308–323, 2007.

EL-SAADONY, M. T.; ALAGAWANY, M.; PATRA, A. K.; KAR, I.; TIWARI, R.; DAWOOD, M. A. O.; DHAMA, K.; ABDEL-LATIF, H. M. R. The functionality of probiotics in aquaculture: an overview. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 117, p. 36–52, 2021. DOI 10.1016/j.fsi.2021.07.007.

ESTEVEZ, K. E.; PINTO LOBO, A. V. Feeding pattern of *Salminus maxillosus* at Cachoeiras de Emas, Mogi Guaçu river (São Paulo State Southeast Brazil). **Rev. Bras. Biol**, v. 61, n. 2, p. 267-276, 2001.

GASTALHO, S.; SILVA, G. J.; RAMOS, F. Uso de antibióticos em aquacultura e resistência bacteriana : impacto em saúde pública. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 3, n. 1, p. 29–45, 2014. .

FURUSHO-GARCIA, I. F.; PEREZ, J. R. O.; BONAGURIO, S.; SANTOS, C. L. Estudo alométrico dos cortes de cordeiros Santa Inês puros e cruzas. **Ver. Bra. Zoo.**, v. 35, n. 4, p. 1416-1422, 2006.

GATESOUBE, F. J. The use of probiotic in aquaculture. **Aquaculture**, v. 180, n. 12, p. 147-165, 1999.

GHOSH. S; SINHA, A.; SAHU, C. Dietary probiotic supplementation on growth and health of live-bearing ornamental fishes. **Aquac Nutr.**; v. 14, n. 4, p. 289-299, 2008.

GOMIERO, J. S. G.; DE FREITAS, R. T. F.; DOS SANTOS, V. B.; DA SILVA, F. F.; RODRIGUES, P. B.; LOGATO, P. V. R. Morphometric growth curves of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 33, n. 3, p. 882–889, 2009. DOI 10.1590/s1413-70542009000300031.

HAMRE, K.; SISSENER, N. H.; LOCK, E. J.; OLSVIK, P. A.; ESPE, M.; TORSTENSEN, B. E.; SILVA, J.; JOHANSEN, J.; WAAGBØ, R.; HEMRE, G. I. Antioxidant nutrition in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr and post-smolt, fed diets with high inclusion of plant ingredients and graded levels of micronutrients and selected amino acids. **PeerJ.**, v. 8, p.0-26, 2016. DOI: 10.7717/peerj.2688.

HE, S.; ZHANG, Y.; XU, L.; YANG, Y.; MARUBASHI, T.; ZHOU, Z.; YAO, B. Effects of dietary *Bacillus subtilis* C-3102 on the production, intestinal cytokine expression and autochthonous bacteria of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* ♀×*Oreochromis aureus* ♂. **Aquaculture**, v. 412, n. 413, p. 125–130, 2013.

HOSEINIFAR, S. H.; SUN, Y.; WANG, A.; ZHOU, Z. Probiotics as means of diseases control in aquaculture , a review of current knowledge and future perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 2429, p. 1–18, 2018. DOI 10.3389/fmicb.2018.02429.

IBRAHEM, M. D.; FATHI, M.; MESALHY, S.; ABD EL-ATY, A. M. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 29, n. 2, p. 241–246, 2010. DOI 10.1016/j.fsi.2010.03.004.

KUBITZA, F. Dourado, uma espécie que merece atenção. **Panorama da Aquicultura**, 2017. Disponível em: [https:// https://panoramadaaquicultura.com.br/dourado-uma-especie-que-merece-atencao](https://panoramadaaquicultura.com.br/dourado-uma-especie-que-merece-atencao). Acesso em: 02 dez. 2021.

LAXMILATHA, P. Biometric relationships of Mactraviolacea(Gmelin) from Kerala, south-west coast of India. **Indian Journal Fish**, v. 55, n. 4, p. 349-351, 2008.

LAZADO, C. C.; CAIPANG, C. M. A.; BRINCHMANN, M. F.; KIRON, V. In vitro adherence of two candidate probiotics from *Atlantic cod* and their interference with the adhesion of two pathogenic bacteria. **Vet Microbiol**. v. 148, n. 4, p. 252-259, 2011.

LIMA, F. C. T. Subfamily *Bryconinae* (Characins, Tetras). In: REIS, R. E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS, C.J. Jr. (eds). **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p. 174-181.

LIM, L. C.; DHERT, P.; SORGELOOS, P. Recent developments and improvements in ornamental fish packaging systems for air transport. **Aquacult. Res.**, v. 34, n. 11, p. 923-935, 2003.

MACINTYRE, C. M.; ELLIS, T.; NORTH, B. P.; TURNBULL, J. F. The Influences of Water Quality on the Welfare of Farmed Rainbow Trout: a Review In: BRANSON, E. J. (Org.). *Fish Welfare*. Oxford: **Blackwell Publishing**, p. 150-184; 2008.

MERRIFIELD, D. L.; DIMITROGLOU, A.; FOEY, A.; DAVIES, S.J.; BAKER, R. T. M.; BOGWALD, J.; CASTEX, M. & RINGO, E. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. **Aquaculture**, v. 302, p. 1-18, 2010.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BARBERO, L. M.; DOS SANTOS, L. D.; BOMBARDELLI, R. A.; COLPINI, L. M. S. Farelo de soja na alimentação de tilápias-do-nilo durante o período de reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 5, p. 791- 794, 2008.

MOHAMMADIAN, T.; GHANEI-MOTLAGH, R.; MOLAYEMRAFTAR, T.; MESBAH, M.; ZAREA, M.; MOHTASHAMIPOUR, H. NEJAD, A. J. Modulation of growth performance, gut microflora, non-specific immunity and gene expression of proinflammatory cytokines in shabour (*Tor grypus*) upon dietary prebiotic supplementation. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 112, p. 38–45, 2021. DOI.org/10.1016/j.fsi.2021.02.012

MOHAPATRA, S.; CHAKRABORTY, T.; KUMAR, V.; BOECK, G.; MOHANTA, K. N. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. **J Anim Physiol. Anim. Nut.**, v. 14, p. 1-26, 2012.

MOHAPATRA, S.; CHAKRABORTY, T.; KUMAR, V.; DEBOECK, G.; MOHANTA, K. N. Aquaculture and stress management: A review of probiotic intervention. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, n. 3, p. 405–430, 2013. DOI 10.1111/j.1439-0396.2012.01301.x.

MOOSAVI-NASAB, M.; MIRZAPOUR-KOUHDASHT, A.; OLIYAEI, N. Application of Essential Oils for Shelf-Life Extension of Seafood Products. *In: Essential Oils - Oils of Nature*, p. 1–12, 2020.

NAYAK, S. Role of gastrointestinal microbiota in fish. **Aquaculture Research**, v. 41, n.11, p. 1553-1573, 2010.

NEWAJ-FYZUL, A.; AL-HARBI, A. H.; AUSTIN, B. Review: developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. **Aquaculture**, vol. 431, p. 1–11, 2014. DOI 10.1016/j.aquaculture.2013.08.026.

NOWAK, M. et al. Weight-length relationships for three fishes (*Leuciscusleuciscus*, *Phoxinusphoxinus*, *Salmo trutta*) from the Strwiaz River (Dniester River drainage). **Archives Poland Fish**, v. 17, p. 313-316, 2009.

OSTRENSKY, A.; BORGUETTI, J.R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília: Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca/ Food and Agriculture Organization, 2008. 276 p.

PARKER, R. B. Probiotics, the other half of antibiotic story. **Animal Nutrition and Health**, v. 29, p. 4-8, 1974.

PEIXE BR. Anuário da Piscicultura, 2018. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2018>. Acesso em: 15 fev. 2020.

PILARSKI, F.; OLIVEIRA, C. A. F.; SOUZA, F. P. B. D.; ZANUZZO, F. S. Different β-glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 70, p. 25-29, 2017. DOI.org/10.1016/j.fsi.2017.06.059

RANDALL, D. J.; LIN, H. Effects of Variations in Water pH on Fish. In: LAHLOU, B.; VITIELLO, P. (Org.). **Aquaculture: Fundamental and Applied Research**. Washington: **American Geophysical Union**, 1993.

REYS, P.; SABINO, J.; GALETTI, M. Frugivory by the fish *Brycon hilarii* (Characidae) in western Brazil. **Acta Oecologica**, v. 35, n. 1, p. 136-141, 2008. DOI 10.1016/j.actao.2008.09.007

RODILES, A.; RAWLING, M. D.; PEGGS, D. L.; DO PEREIRA, G. V.; VOLLER, S.; YOMLA, R.; STANDEN, B. T.; BOWYER, P.; MERRIFIELD, D. L. Probiotic applications for finfish aquaculture. *In*: DI GIOIA, D.; BIAVATI, B. (eds). **Probiotics and Prebiotics in Animal Health and Food Safety**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 197-217. DOI 10.1007/978-3-319-71950-4_8.

ROMÁN, L.; REAL, F.; SORROZA, L.; PADILLA, D.; ACOSTA, B.; GRASSO, V.; BRAVO, J.; ACOSTA, F. The in vitro effect of probiotic *Vagococcus fluvialis* on the innate immune parameters of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 33, n. 5, p. 1071–1075, 2012.

ROMERO, J.; FEIJOÓ, C.; NAVARRETE, P. Antibiotics in aquaculture – Use, abuse and alternatives. *In*: Carvalho, E. (ed.). **Health and Environment in Aquaculture**. 2012.

RODILES, A.; RAWLING, M. D.; PEGGS, D. L.; DO PEREIRA, G. V.; VOLLER, S.; YOMLA, R.; STANDEN, B. T.; BOWYER, P.; MERRIFIELD, D. L. Probiotic applications for finfish aquaculture. *In*: DI GIOIA, D.; BIAVATI, B. (eds). **Probiotics and Prebiotics in Animal Health and Food Safety**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 197-217. DOI 10.1007/978-3-319-71950-4_8.

ROUBACH, R.; GOMES, L. C. O Uso de Anestésicos durante o Manejo de Peixes. **Panorama da Aquicultura**. 2001. Disponível em: (panoramadaaquicultura.com.br). Acesso em: 20 jan de 2022.

SABINO, J; ANDRADE, L. P. Uso e conservação da ictiofauna no ecoturismo da região de Bonito, Mato Grosso do Sul: o mito da sustentabilidade ecológica no rio Baía Bonita (Aquário Natural de Bonito). **Biota Neotropica**, v. 3, n. 2, 2003.

SAMPAIO, F. F. D.; FREIRE, C. A. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. **Fish Fish**. p.1-18.

SANCHES, A.; GALETTI, J. R., P. M. Genetic evidence of population structuring in the neotropical freshwater fish *Brycon hilarii* (Valenciennes, 1850). **Braz. J. Biol.**, v.67, no .4, p.889-895, 2007.

SHABANI, F.; ERIKSON, U.; BELI, E.; REXHEPI, A. Live transport of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) and subsequent live storage in market: Water quality, stress and welfare considerations. **Aquaculture**, v. 453, p. 110-115, 2016.

SILVA, W. R.; PAIXÃO, P. S.; CARVALHO, W. M.; CAMPECHE, D. F. B.; BONFÁ, H. C. Modelos não lineares de crescimento da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) na linhagem Chitralada. In: Embrapa Semiárido: **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia**, Sertão de Pernambuco, 2017.

SILVA, L. A.; MARTINS, M. A.; SANTO, F. E.; OLIVEIRA, F. C.; CHAVES, F. C. M.; CHAGAS, E. C.; MARTINS, M. L.; DE CAMPOS, C. M. Essential oils of *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* as anesthetics for the South American catfish *Pseudoplatystoma reticulatum*. **Aquaculture**, v. 528, n. June, p. 735595, 2020. DOI 10.1016/j.aquaculture.2020.735595.

SILVA, L. A.; PILARSKI, F.; CHAVES, F. C. M.; CHAGAS, E. C.; FERNANDES, C. E.; LIBANORI, M. C. M.; PEREIRA, S. A.; MARTINS, M. L.; CAMPOS, C. M. *Ocimum gratissimum* essential oil improved the health, innate immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in *Pseudoplatystoma reticulatum*. **Semina: Ciênc.**, v. 42, n. 6, p. 3855-3868, 2021. DOI: 10.5433/1679-0359.2021v42n6Supl2p3855

SINGH, S. T.; KAMILYA, D.; KHETI, B.; BORDOLOI, B.; PARHI, J. Paraprobiotic preparation from *Bacillus amyloliquefaciens* FPTB16 modulates immune response and immune relevant gene expression in *Catla catla* (Hamilton, 1822). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 66, p. 35–42, 2017. DOI 10.1016/j.fsi.2017.05.005.

SOARES, M. P.; CARDOSO, I. L.; ISHIKAWA, M. M.; DE OLIVEIRA, A. da S. S.; SARTORATTO, A.; JONSSON, C. M.; DE QUEIROZ, S. C. do N.; DUARTE, M. C. T.; RANTIN, F. T.; SAMPAIO, F. G. Effects of *Artemisia annua* alcohol extract on

physiological and innate immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to improve health status. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 105, n. May, p. 369–377, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.07.035>.

SANTOS BATISTA, E.; BRANDÃO, F. R.; MAJOLO, C.; INOUE, L. A. K. A.; MACIEL, P. O.; DE OLIVEIRA, M. R.; CHAVES, F. C. M.; CHAGAS, E. C. *Lippia alba* essential oil as anesthetic for tambaqui. **Aquaculture**, v. 495, n. April, p. 545–549, 2018. DOI 10.1016/j.aquaculture.2018.06.040.

SCORVO FILHO, J. D.; MARTIN, N. B.; AYROSA, L. M. S. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra 1996/97. **Informações Econômicas**, v.28, n.3, p.41-60, 1998.

SHANMUGAM, A.; SOUNDARAPANDIAN, P.; PRAMOD, G.; KANNUPANDI, T. Length-weight relationship and biometry of the groupers *Epinephelus tauvina* (Forsskal, 1775) and *E. malabaricus* (Schneider, 1801). **Indian Journal Fish**, v. 47, n. 1, p. 7-11, 2000.

SUGITA, H.; FUJIE, T.; SAGESAKA, T.; ITOI, S. The effect of *Lactococcus lactis* on the abundance of aeromonas in the rearing water of the goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus). **Aquaculture Research**, v. 41, p. 153–156. 2009.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIHAH, U. R. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: An updated review. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, 2016.

TAH, L.; BI, G. G.; DA COSTA, K. S. Length-weight relationships for 36 freshwater fish species from two tropical reservoirs: Ayamé I and Buyo, Côte d'Ivoire. **Revista Biologia Tropical**, v. 60, n. 4, p. 1847-1856, 2012.

TAVERNITI, V.; GUGLIELMETTI, S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: Proposal of paraprobiotic concept). **Genes and Nutrition**, v. 6, n. 3, p. 261–274, 2011.

<https://doi.org/10.1007/s12263-011-0218-x>.

TEIXEIRA, A. S. Alimentos e alimentação dos animais. **Lavras: UFLA** ,. p. 100-102, 2001.

TINH, N. T. N.; LINH, N. D.; WOOD, T. K.; DIERCKENS, K.; SORGELOOS, P.; BOSSIER, P. Interference with the quorum sensing systems in a *Vibrio harveyi* strain alters the growth rate of gnotobiotically cultured rotifer *Brachionus plicatilis*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 194–203, 2007.

TSILINGIRI, K.; BARBOSA, T.; PENNA, G.; CAPRIOLI, F.; SONZOGNI, A.; VIALE, G.; RESCIGNO, M. Probiotic and postbiotic activity in health and disease: comparison on a novel polarised *ex-vivo* organ culture model. **Gut**, v. 61, p.1007–101, 20125.

TSILINGIRI, K., RESCIGNO, M. Postbiotics: what else? **Beneficial Microbes**, v. 4, p. 101–107, 2013.

VALENTI, W. C.; BARROS, H. P.; MORAES-VALENTI, P.; BUENO, G. W.; CAVALLI, R. O. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, vol. 19, no. July 2020, p. 100611, 2021. DOI 10.1016/j.aqrep.2021.100611.

VENTURA, A. S.; FILHO, R. A. C. C.; TEODORO, G. C.; LAICE, L. M.; BARBOSA, P. T. L.; STRINGHETTA, G. R.; POVH, J. A. Essential oil of *Ocimum basilicum* and Eugenol as Sedatives for Nile Tilapia. **Journal of Agricultural Studies**, vol. 8, no. 2, p. 657, 2020. <https://doi.org/10.5296/jas.v8i2.17075>.

VERRETH, J. A. J. Growth and feeding metabolism in fish larvae. In: ERASMUS COURSE, 30. **Fish Culture and Fisheries Group**, v. 8, p.1-26, 1995.

VILLAMIL, L.; TAFALLA, C.; FIGUERAS, A.; NOVOA, B. Evaluation of immunomodulatory effects of lactic acid bacteria in turbot (*Scophthalmus maximus*). **Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 9, p. 1318–1323.

YAN, Y. Y.; XIA, H. Q.; YANG, H. L.; HOSEINIFAR, S. H.; SUN, Y. Z. Effects of dietary live or heat-inactivated autochthonous *Bacillus pumilus* SE5 on growth performance, immune responses and immune gene expression in grouper *Epinephelus coioides*. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, p. 698–707, 2016.

YANKOVA, M.; RAYKOV, V. S.; GERDZHIKOV, P. B.; FRATEVA, P. B. Growth and length-weight relationships of the horse mackerel, *Trachurus mediterraneus ponticus* (Aleev, 1956), off the Bulgarian Black Sea coast. **Turk Journal Zoology**, v. 34, p. 85-92, 2010.

WATTS, J. E. M.; SCHREIER, H. J.; LANSKA, L.; HALE, M. S. The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: Sources, sinks and solutions. **Marine Drugs**, vol. 15, no. 6, p. 1–16, 2017. <https://doi.org/10.3390/md15060158>.

WEINGARTNER, M.; ZANIBONI FILHO, E. Biologia e cultivo de dourado. In: BALDISSEROTO B. E GOMES L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. **Santa Maria: UFSM**, 2013.

ZANIBONI FILHO, E.; TATAJE, D. R.; WEINGARTNER, M. Potencialidad del género Brycon en la piscicultura brasileña. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 19, 2006.

ZANUZZO, F. S.; URBINATI, E. C.; RISE, M. L.; HALL, J. R.; NASH, G. W.; GAMPERL, A. K. *Aeromonas salmonicida* induced immune gene expression in aloe vera fed steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture**, v. 435, p. 1–9, 2014. DOI 10.1016/j.aquaculture.2014.09.010.

ZEE-MS, Zoneamento Ecológico Econômico de Mato Grosso do Sul - SEMAGRO.

ZEPPENFELD, C. C. et al. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquaculture**, v. 418–419, p. 101–107, 2014.

ARTIGO 1 Crescimento alométrico de piraputangas *Brycon hilarii* produzidas em hapas

Fúlvia Cristina Oliveira¹; Cristiane Meldau de Campos^{1,2}

¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-graduação de Ciência Animal, Campo Grande - MS, Brasil.

^{1,2}Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-graduação em Zootecnia – Aquidauana - MS, Brasil.

Resumo

Avaliações biométricas são indispensáveis para determinar características de crescimento relacionadas ao peso e comprimento dos peixes. Esse estudo teve como objetivo determinar o padrão de crescimento de juvenis de piraputangas (*Brycon hilarii*) produzidas em hapas dentro de viveiro escavado. As piraputangas foram anestesiadas e microchipadas e, aferidas as medidas de comprimento ($11,89 \pm 0,63$ cm) e peso ($18,35 \pm 3,16$ g). Posteriormente, foram distribuídas em seis hapas de 8 m³ na densidade de 20 peixes/hapa, totalizando 120 animais. Durante o período experimental os peixes foram alimentados duas vezes (5% da biomassa) ao dia e a cada 30 dias todos os peixes foram amostrados para mensuração das características biométricas: peso corporal (g); comprimento padrão; comprimento total; altura da cabeça; comprimento da cabeça; altura do corpo e largura do corpo (cm). Os cálculos da relação de peso com as características biométricas foram determinados por meio da equação alométrica de Huxley (1932) e estimados por regressão linear de acordo com o log da equação $Y = \log a + b \log X$. Todas as correlações testadas foram significativas pelo teste t de Student ($p < 0,05$). O crescimento alométrico foi positivo em todas as variáveis, exceto para as relações de peso x largura do corpo, comprimento padrão x comprimento da cabeça e comprimento padrão x altura do corpo. O fator de condição relativo das piraputangas observado no presente estudo foi de 1,00. O estudo forneceu informações dos parâmetros alométricos de juvenis de *Brycon hilarii* criados em hapas, o fator de condição relativo indicou boas condições de crescimento das piraputangas com crescimento foi alométrico positivo.

Palavras chave: biometria, crescimento, morfometria, relações morfométricas

Abstract

Biometric assessments are suitable for fish weight and length growth characteristics. This study aimed to determine the growth pattern of juvenile piraputangas (*Brycon hilarii*) raised on hapas in an excavated pond. Piraputangas weighing 18.35 ± 3.16 g total length of 11.89 ± 0.63 cm (mean \pm SD), were anesthetized for morphometric data collection, individuals received from the identification microchip and, later, were distributed, identification randomly, in 6 hapa of 8 m^3 at a density of 20 fish/hapa. During the experimental period, the fish were fed twice (5% of the biomass) a day and every 30 days all fish were sampled to measure the biometric characteristics: body weight (g); standard length; total length; head height; head length; body height and body width (cm). The calculations of the weight relationship with the biometric characteristics were determined using the allometric equation of Huxley (1932) and estimated by linear regression according to the log of the equation $Y = \log a + b \log X$. All tested correlations were significant by the Student's t-test ($p < 0.05$). Allometric growth was positive in all variables, except for weight x body width, standard length x head length, and standard length x body height ratios. The relative condition factor of piraputangas observed in the present study was 1.00. The study provided information on the allometric parameters of *Brycon hilarii* juveniles reared on hapas, the relative condition factor indicated good growth conditions for piraputangas with positive allometric growth.

Keywords: biometry, growth, morphometry, morphometric relationship

1. Introdução

Na produção animal o processo de crescimento influencia, quase que diretamente na produção de carne (Bridi 2006), por isso conhecimentos básicos do crescimento animal é importante para a sua aplicação, visando uma maior eficiência na produção. O desenvolvimento do formato do corpo é o que caracteriza o crescimento de um animal e pode ser monitorado por medidas ou índices morfométricos (Boussou et al. 2010). A morfometria é definida como o estudo da mudança da forma e do tamanho, e da relação dessas duas variáveis, podendo também ser relacionada com diversas outras variáveis, como, por exemplo, a idade, o sexo, ou as relações históricas entre os organismos estudados (Moraes 2003; Santos et al. 2007).

As avaliações das características corporais realizadas por meio de biometrias, monitoram o crescimento dos organismos aquáticos em diversos tipos de ambientes, naturais ou experimentais (Kumar et al. 2012; Varela et al. 2012). Diante dessas medidas podemos identificar o padrão de crescimento, condições de habitat e saúde (Froese 2006). As medidas morfométricas nos peixes podem variar de acordo com as características de cada espécie, e influencia no peso corporal e no rendimento do filé (Bosworth, Libey e Notter 2001). A distinção entre crescimento em comprimento e crescimento em peso pode ser sutil, mas em termos fisiológicos, eles envolvem processos diferentes. Uma parte importante do crescimento de peso pode ser devido ao acúmulo e restauração de reservas de energia, enquanto o crescimento em comprimento se refere à síntese de moléculas estruturais (Couture et al. 1998).

A relação peso-comprimento de uma espécie fornece informações importantes para avaliar populações de peixes e estimar o padrão de crescimento e peso (Mahmood et al. 2012; Antonetti et al. 2014). A relação empírica entre o comprimento e o peso dos peixes auxilia no entendimento da história natural de espécies de peixes que são comercialmente importantes, visando sua conservação, e conhecimento sobre as mudanças climáticas e ambientais (Sarkar et al. 2013). Diante dessa relação pode-se estimar o fator de condição, que é considerado um indicador quantitativo do grau de hígidez ou bem-estar das espécies, garantindo sucesso populacional, pois influência no crescimento, reprodução e sobrevivência (Le Cren 1951; Vazzoler 1996).

O gênero *Brycon* compreende cerca de 40 espécies, algumas se destacam pelo grande potencial produtivo e boa atratividade na pesca esportiva (Ceccarelli e

Senhorini 1996; Lima 2003; Ganeco e Nakaghi 2003). A piraputanga (*B. hilarii* (Valenciennes, 1850) é uma espécie endêmica da bacia do Rio Paraguai, possui grande importância ecológica e é muito apreciada pela qualidade da sua carne (Lima 2003; Zaniboni Filho et al. 2006). É descrita como peixe de escamas, corpo alongado e um pouco comprimido e seu comprimento pode chegar até 56 cm (Froese e Pauly 2011), no entanto, pouco se sabe sobre a morfometria, relação peso-comprimento e o padrão de crescimento dessa espécie.

Dados sobre crescimento alométrico são cruciais para promover o desenvolvimento de protocolos de criação ideais e melhorar a eficiência de produção de juvenis de alta qualidade. Diante disso, este estudo teve como objetivo determinar o padrão de crescimento alométrico das medidas corporais de piraputangas (*Brycon hilarii*) produzidas em hapas dentro de viveiro escavado.

2. Material e Métodos

2.1. Animais e condição amostral

Juvenis de piraputangas (*Brycon hilarii*), com peso de $18,350 \pm 3,16$ g e comprimento total de $11,89 \pm 0,63$ cm (média \pm DP), foram obtidos de uma piscicultura comercial e aclimatados por 30 dias em uma hapa multifilamento (5 mm) de 8 m³ instalada em um viveiro escavado, no setor de piscicultura da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Campus de Aquidauana. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, com ração comercial extrusada contendo 36 % de proteína bruta.

Todos os procedimentos envolvendo os animais seguiram as diretrizes para procedimentos experimentais em pesquisa animal do Comitê de Ética do Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS, Aquidauana, MS, Brasil (Protocolo n° 014/2021).

2.2. Variáveis biométricas

Após o período de adaptação, os peixes foram anestesiados em solução de eugenol (50 mg L⁻¹) para coleta dos dados morfométricos, individualmente cada peixe recebeu um microchip de identificação e em seguida foram distribuídos, aleatoriamente, em

seis hapas de 8 m³ na densidade de 20 peixes/hapa. As hapas foram distribuídas em um viveiro escavado de 100 m², cada hapa continha entrada de água extra para ajudar na oxigenação e na renovação da água. Durante o período experimental os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, com ração extrusada contendo 36% PB nos quatro primeiros meses e 32% PB nos meses seguintes, na taxa de arraçoamento de 5% da biomassa. A quantidade de ração fornecida foi ajustada de acordo com as biometrias realizadas no decorrer da produção, a cada 30 dias, durante sete meses. A biometrias foram realizadas com auxílio de paquímetro, ictiômetro e balança digital semi-analítica. As características biométricas avaliadas foram (Figura 01):

- Peso corporal em gramas (Peso);
- Comprimento padrão (cm) (CP - compreendido entre a extremidade anterior da cabeça para o perímetro mais pequeno do pedúnculo - inserção da nadadeira caudal);
- Comprimento total em cm (CT - compreendido da extremidade anterior da cabeça e o final da nadadeira caudal);
- Altura da cabeça (Acab): medida que compreende entre a parte inferior e a parte superior da cabeça;
- Comprimento da cabeça em cm (Ccab - compreendido entre a extremidade anterior da cabeça e o bordo caudal do opérculo);
- Altura do corpo em cm (Acor - medida à frente do 1º raio da nadadeira dorsal);
- Largura do corpo em cm (Lcor – medida à frente do 1º raio da nadadeira dorsal);

Os parâmetros de qualidade de água foram medidos três vezes na semana e estavam dentro dos níveis aceitavam para a piscicultura segundo Boyd (1990). No período da manhã pH ($6,48 \pm 0,19$); oxigênio dissolvido ($5,44 \pm 1,13 \text{ mg/L}^{-1}$) e temperatura ($28,70 \pm 1,79 \text{ }^\circ\text{C}$); e no período da tarde pH ($6,64 \pm 0,26$); oxigênio dissolvido ($6,19 \pm 0,69 \text{ mg/L}^{-1}$) e temperatura ($32,06 \pm 1,70 \text{ }^\circ\text{C}$).

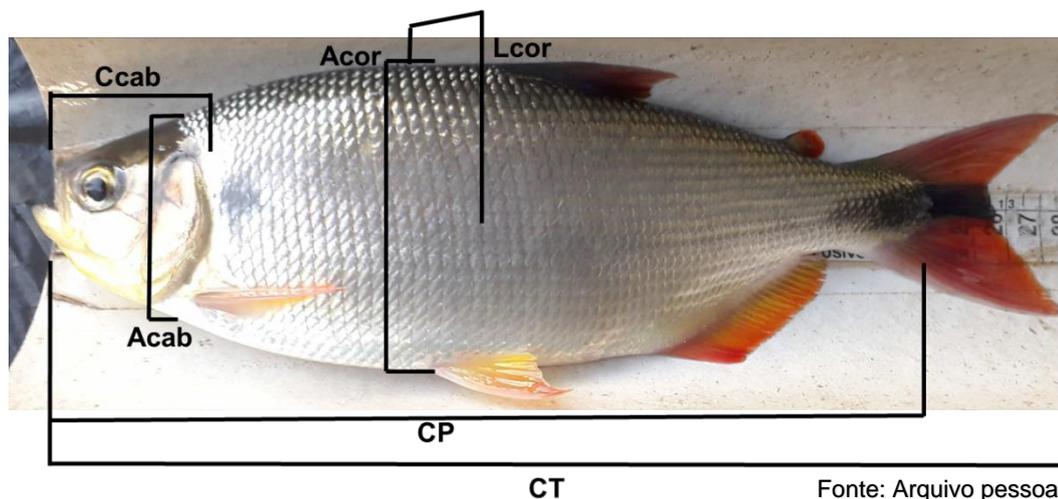


Figura 1. Medidas biométricas de juvenis de piraputangas *Brycon hilarii* cultivados em hapas. CT comprimento total, CP comprimento padrão, Acab altura da cabeça, Ccab comprimento da cabeça, Acor altura do corpo e Lcor largura do corpo.

2.3. Análise biométrica e estatística

Os cálculos dos dados da relação de peso com as características morfométricas mensuradas foram determinadas por meio da equação alométrica de Huxley (1932) $Y = a X^b$ onde, Y é o peso total (g), X é a característica morfométrica (cm), a ponto de interseção relacionado à forma do corpo e b coeficiente de crescimento (Ricker 1973; Chen e Jackson 2000). Os parâmetros a e b foram estimados por regressão linear de acordo com o log da equação $Y = \log a + b \log X$. Os valores obtidos do coeficiente de crescimento ou coeficiente angular (b) das variáveis morfométricas foram testados pelo teste t de Student para avaliar se os parâmetros diferem de zero. O coeficiente angular usado para caracterizar o tipo de crescimento: crescimento isométrico quando $b = 3$, pois as taxas de desenvolvimento de X e Y foram semelhantes no crescimento; alométrico positivo quando $b > 3$, Y cresce proporcionalmente mais que X e crescimento alométrico negativo quando $b < 3$, o desenvolvimento de Y foi menor que o de X .

O fator de condição alométrico (K) foi determinado pela fórmula: $K = (W/L^b)$, onde W e L representa o peso corporal (g) e comprimento total (cm), respectivamente e b é coeficiente angular da regressão entre a relação peso-comprimento (Vazzoler 1996). O fator de condição relativo foi determinado por $Kn = Wt/We$, sendo Wt o peso total individual do peixe e We o peso esperado (estimado pela equação obtida da

relação peso comprimento). Quando $Kn \geq 1$ indica boa condição de crescimento do peixe, enquanto $Kn < 1$ indica que o peixe está em condição de baixo crescimento em comparação com o indivíduo médio como mesmo crescimento (Le Cren 1951).

3. Resultados e Discussão

As análises descritivas dos dados biométricos dos juvenis de piraputangas *Brycon hilarii* estão apresentadas pela média, desvio padrão, valores mínimo e máximo e coeficiente de variação (Tabela 1). As variáveis comprimento total e padrão, altura da cabeça, comprimento da cabeça e altura do corpo apresentaram coeficiente de variação menores ou próximos a 10%, o que caracteriza pequena variação dos dados.

O coeficiente de variação (amostral) foi maior para o peso dos peixes, e pode estar relacionado a diversos fatores, como comportamento hierárquico, mas era esperado ser maior no peso. Na maioria dos sistemas de produção é comum ocorrer variações no peso e comprimento dos peixes, devido a dominância de peixes maiores no lote, por isso, é importante fazer a classificação dos peixes, para deixar o lote homogêneo e diminuir a dominância dentro dos tanques.

Tabela 1. Análise descritiva, média, desvio padrão (DP), valor mínimo e máximo e coeficiente de variação (CV) das variáveis biométricas de juvenis de piraputangas *Brycon hilarii* cultivados em hapas (n=108).

Medidas	Média	±DP	Mínimo	Máximo	CV %
Peso (g)	164,62	37,26	98,00	276,00	22,58
Comprimento total (cm)	23,00	1,89	15,50	27,00	8,26
Comprimento padrão (cm)	17,72	1,38	12,00	20,50	7,82
Altura da cabeça (cm)	3,96	0,29	3,30	5,30	8,16
Comprimento cabeça (cm)	4,57	0,37	3,50	5,80	7,82
Altura do corpo (cm)	6,00	0,62	3,80	7,50	10,58
Largura do corpo (cm)	2,60	0,32	1,50	3,25	12,38
Fator de condição relativo	1,00	0,11	0,65	1,55	11,60
Fator de condição alométrico	0,89	0,11	0,45	1,99	12,42

O crescimento em peso de juvenis de *Brycon hilarii* em função do tempo está apresentado na Figura 2. Foi observado que até 150 dias o crescimento em peso foi acentuado, porém nos meses seguintes o crescimento em peso teve um desenvolvimento mais lento. No geral, o peso médio foi baixo em relação ao tempo, mesmo com densidade de estocagem de 2,5 peixes/m², considerada adequada para a espécie. Não há registros do desenvolvimento dessa espécie em hapas, talvez esse sistema não seja adequado para a espécie, por isso o desenvolvimento dos peixes tenha sido lento.

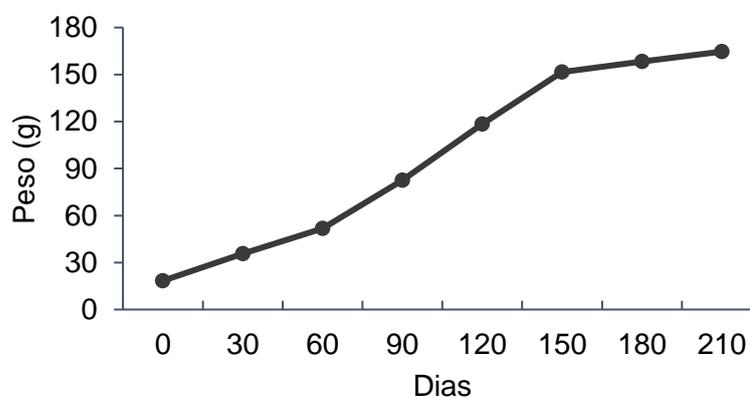


Figura 2. Crescimento em peso (médio) de piraputangas *Brycon hilarii* em função do tempo de produção.

Couto et al. (2014) avaliaram a densidade de estocagem de piraputangas em tanques-rede e após 60 dias de cultivo obtiveram peso médio de 40,40 g, sendo maior que o presente trabalho que apresentou peso médio de 33,45 g. Apesar da espécie *Brycon hilarii* ter um grande potencial para produção animal, sua produção ainda é muito regional e há relatos de produtores pontuando que o crescimento torna-se mais lento a partir de 600 a 700 g. Na literatura há poucos trabalhos sobre o desempenho dessa espécie, e alguns tem como foco o papel ecológico da espécie como dispersor de sementes nos períodos de migração (Sabino et al. 2005; Reys et al. 2008).

A relação peso-comprimento e fator de condição alométrico estão apresentados na Figura 3. A relação peso-comprimento padrão foi estabelecida usando a equação $y = 0,0089 x^{3,1081}$ (R^2) 0,9696. O valor de b foi maior que 3,0

indicando que as piraputangas apresentaram crescimento alométrico positivo, ou seja, o aumento no peso do animal foi maior do que o aumento em comprimento, isso torna o peixe menos alongado e mais arredondado conforme cresce (Froese et al. 2011). Essa relação fornece dados importantes do peso e biomassa dos peixes podendo ser usado para comparar diferentes populações ou espécies, entre outros estudos (Tavares-Dias et al. 2006; Froese et al. 2011). Podemos observar pelo diagrama de dispersão da Figura 3 que alguns peixes não foram homogêneos quanto à amplitude de variação, o que é normal num sistema de cultivo.

O fator de condição alométrico indica o estado de bem-estar do peixe ou boa condição corporal, não podendo variar com o comprimento do peixe, sendo correlacionado com a constante da relação peso-comprimento, expressa por $P = aC^b$ (Braga 1986; Gomiero 2010). O seu valor reflete as condições nutricionais sob a qual os organismos estão se desenvolvendo (Araneda et al. 2008). O fator de condição relativo (Figura 4) das piraputangas observado no presente estudo foi de 1,00, indicando que o sistema de cultivo não prejudicou o crescimento dos peixes, sugerindo um estado de bem estar. Esse dado serve como referência para a espécie, já que não existem estudos avaliando o fator de condição. Em matrinxã podemos encontrar fator de condição relativo variando de 1,12 (Benacon et al. 2015) a 1,00 oriundas de viveiro (Tavares-Dias et al. 2008).

A relação do peso corporal com as medidas morfométricas foram estimadas pela equação de regressão linear simples e ajustaram-se ao modelo testado Tabela 2. Todas as correlações testadas foram significativas pelo teste t de Student ($p < 0,05$), isso indica que o peso tem uma forte relação sobre as medidas corporais (relação de dependência), assim como o comprimento padrão tem uma forte relação com o comprimento da cabeça e altura do corpo. O tipo de crescimento foi determinado pelo valor obtido de b e foi identificado com crescimento alométrico positivo em todas as variáveis, exceto para as relações de peso x largura do corpo, comprimento padrão x comprimento da cabeça e comprimento padrão x altura do corpo. Benacon et al. (2015) observaram em *Brycon amazonicus* coletadas no lago do Breu - Amazonas crescimento alométrico negativo $b = 1,809$.

Peixes do gênero *Brycon* possuem o corpo alongado e a cabeça pequena, por isso o valor de b para as relações comprimento padrão x comprimento da cabeça e comprimento padrão x altura do corpo foi menor que 3, indicando um desenvolvimento

maior em comprimento do que cabeça e altura do corpo. O R^2 variou de 0,91 a 0,97 e sua maior correlação foi observado entre peso-comprimento total, indicando constante relação entre as duas variáveis.

Os coeficientes de correlação (r) são modelos matemáticos quem medem as relações entre variáveis e o que elas representam. Todos os coeficientes de correlação foram positivos e acima de 0.95, isso indica uma forte relação entre as variáveis estudadas. O valor do coeficiente de correlação entre peso e comprimento total foi de 0,98, superior ao observado por Benacon et al. (2015) em *Brycon amazonicus* (0,85) e igual ao encontrado por Tavares-Dias et al. (2006) em *Brycon orbignyanus* (0,92).

Há vários estudo sobre as relações de peso-comprimento de diversas espécies de peixes, esses registros ajudam a descrever o padrão de crescimento de uma determinada espécie, em diversos habitat e suas possíveis variações, e assim entender melhor como cada espécie se desenvolve no seu ambiente. Vários fatores podem interferir e afetar a composição do corpo dos peixes como a nutrição e tamanho do peixe (Ebrahimi e Ouraji 2012) e parâmetros ambientais (Ali et al. 2001). Medidas morfométricas como comprimento, largura e altura do corpo podem ser usados para determinar o peso de abate e o rendimento do filé de tilápias (Gonçalves et al. 2001; Rutten et al. 2005).

O estudo forneceu informações dos parâmetros alométricos de juvenis de *Brycon hilarii* criados em hapas. O crescimento alométrico foi positivo, assim, como os coeficientes de correlações. O valor médio do fator de condição relativo foi igual a um, indicando bom crescimento dos peixes. Esses dados são importantes para caracterizar o padrão de crescimento de piraputangas nesse sistema de produção.

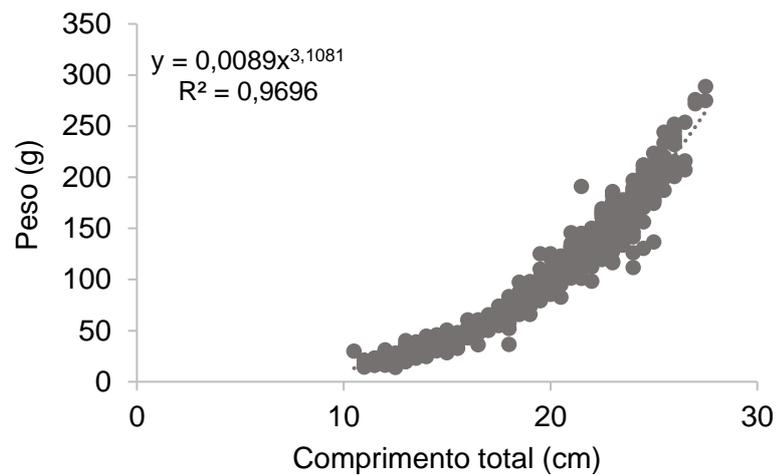


Figura 3. Diagrama de dispersão da relação peso-comprimento de juvenis de piraputangas *Brycon hilarii* produzidos em hapas durante 210 dias.

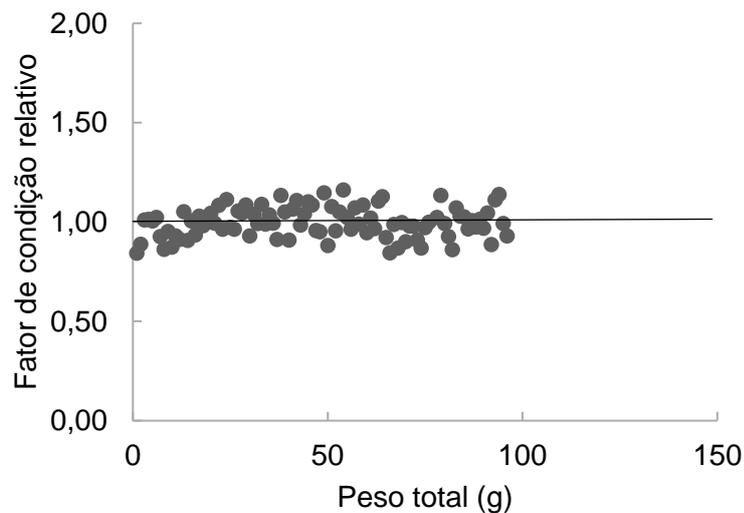


Figura 4. Valores individuais do fator de condição relativo (Kn) em relação ao peso de piraputangas produzidas em hapas após 210 dias. Valor padrão de Kn=1,0.

Tabela 2. Equações de regressão para as relações entre variáveis morfométricas de juvenis de piraputangas *Brycon hilarii* produzidos dias em hapas durante 210.

Variáveis relacionada	r	Equação de regressão (log P= log a +blogC)	R ²	p	CV
Peso x CT	0.98	LogP= - 4.725 + 3.108 logCT	0.97	< 0.001	28.26
Peso x CP	0.98	LogP= - 4.219 + 3.185 logCP	0.96	< 0.001	24.83
Peso x Acab	0.95	LogP= - 0.039 + 3.439 logAcab	0.91	< 0.001	56.70
Peso x Ccab	0.97	LogP= - 0.831 + 3.903 logCcab	0.94	< 0.001	58.20
Peso x Acor	0.98	LogP= 0.519 + 2.501 logAcor	0.96	< 0.001	51.97
Peso x Lcor	0.97	LogP= 2.625 + 2.267 logLcor	0.94	< 0.001	74.55
CP x Ccab	0.97	LogCP= 1.095 + 1.202 logCcab	0.94	< 0.001	35.78
CP x Acor	0.98	LogCP= 1.508 + 0.771 logAcor	0.96	< 0.001	30.72

r= coeficiente de correlação, R²= coeficiente de determinação, p < 0.05.

Peso (P), comprimento total (CTI), comprimento padrão (CP), altura da cabeça (Acab), comprimento da cabeça (Ccab), altura do corpo (Acor) e largura do corpo (Lcor).

4. Referências

Ali M, Salam, A, Iqbal, F (2001) Effect of environmental variables on body composition parameters of *Channa punctata*. Journal of Research (Science) 12:200-206.

Antonetti DA, Leal ME, Schulz UH (2014) Length-weight relationships for 19 fish species from the Jacuí Delta, RS, Brazil. Journal Applied Ichthyology 30:259-260.

Araneda M, Perez EP, Gasca LE (2008) White shrimp *Penaeus vannamei* culture in freshwater at three densities: condition state based on length and weight. Aquaculture 283:13–18.

Bosworth BG, Libey GS, Notter, DR (1998) Relationship among total weight, body shape, visceral components, and fillet traits in palmetto bass (*Striped bass* female *Morone saxatilis* x white bass male *M. chrysops*) and paradise bass (*Striped bass* female *Morone saxatilis* x yellow bass male *M. mississippiensis*). Journal of World Aquaculture Society 29: 40–50. doi.org/10.1111/j.1749-7345.1998.tb00298.x

Boussou CK, Konan FK, Edia EO, Ouattara M, Yves KB, Ouattara A, Gourène G (2010) Morphometric analysis of populations of *Chromidotilapia guntheri* (Sauvage,

1882) (Cichlidae, perciformes) in four coastal rivers of Côte d'Ivoire (West Africa). Pan-American Journal of Aquatic Sciences 5: 387-400.

Bridi AM (2006) Crescimento e desenvolvimento do tecido muscular. Universidade Estadual de Londrina. Londrina-PR.

Ceccarelli PS e Senhorini JA (1996) *Brycon*: Viabilização da produção de alevinos. Panorama da Aquicultura 35:10-11.

Couture P, Dutil JD, Guderley H (1998) Biochemical correlates of growth and condition in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Newfoundland. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 55:1591–1598.

Dettlaff TA, Ginsburg AS, Schmalhausen OI (1993) Sturgeon fishes. Developmental biology and aquaculture. Berlin, Springer-Verlag.

Ebrahimi IG e Ouraji H (2012) Growth performance and body composition of kutum fingerlings, *Rutilus frisii* kutum (Kamenskii, 1901), in response to dietary protein levels. Turkish Journal of Zoology 36:551-558.

Froese R (2006) Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. Journal Applied Ichthyology 22:241-253. doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00805.x.

Froese R e Pauly D (2011) A Global Information System on Fishes. <http://www.fishbase.org>. Acessado em 15 de dezembro de 2021

Ganeco LN, Nakaghi LSO (2003) Morfologia da micrópila e da superfície de ovócitos de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Osteichthyes, Characidae), sob microscopia eletônica de varredura. Acta Scientiarum. Biological Sciences 25:227-231.

Gomiero LM, Villares-Junior GA, Braga FMS (2010) Relação peso-comprimento e fator de condição de *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) no Parque Estadual da

Serra do Mar - Núcleo Santa Virgínia, Mata Atlântica, estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica* 10:101-105.

Gonçalves TM, Almeida, AJL, Oliveira HN, (2001) Avaliação de características de carcaças de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: REUNIÃO ANUAL DA Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: SBZ, 2001. p.38.

Kumar T, Chakraborty S, Jaiswar KA, Sandhya KM, Panda D (2012) Biometric studies on *Johnie opssina* (Cuvier, 1830) along Ratnagiri coast of Maharashtra. *Indian Journal Fish* 59:7-13.

Le Cren ED (1951) The length-weight relationship and seasonal cycle in gonadal weight and condition in the perch, *Perca luviatilus*. *Journal of Animal Ecology*, London 20:201-219.

Lima FCT (2003) Subfamily Bryconinae (Characins, tetras). In: Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris. C. J. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs 174-181.

Mahmood K, Mahmood Ayub Z, Moazzam MS, Siddiqui G (2012) Length-weight relationship and condition factor of *Ilisha melastoma* (Clupeiformes: Pristigasteridae) off Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology* 44:71-77.

Moraes DA (2003) A morfometria geométrica e a “revolução na morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. *Boletim - Revista de Divulgação Científica dos Estudantes de Biologia, Recife*, n. 3.

Reist JD (1985) An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric data. *Canadian Journal of Zoology* 63:1429-1439.

Ricker WE (1973) Linear regressions in fishery research. *Journal Research Board of Canada* 30:309-334.

Rutten MJM, Bovenhuis H, Komen H (2005) Genetic parameters for fillet traits and body measurements in tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture* 246: 125-132.

Sabino J, Reys PE, Galetti M (2005) Frugivoria e dispersão de sementes por *Brycon hilarii* no rio Formoso, Bonito, Mato Grosso do Sul, com ênfase na conservação populacional. In: Encontro Brasileiro de Ictiologia: Ictiofauna Brasileira – estado atual do conhecimento, 16, 2005, João Pessoa. Livro de Resumos. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Ictiologia e Universidade Federal da Paraíba, p. 151.

Santos VB, Freitas RTF, Logato PVR, Freato TA, Orfão LH, Millioti LC (2007) Rendimento do processamento de linhagens de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em função do peso corporal. *Ciência e Agrotecnologia* 31:554-562.

Sarkar UK, Khan GE, Dabas A, Pathak AK, Mir JI, Rebello SC, Pal A, Singh SP (2013) Length weight relationship and condition factor of selected freshwater fish species found in River Ganga, Gomti and Rapti, India. *Journal Environ Biol.* 34:951-956.

Simon K, Mazlan A (2008) Length-weight and length-length relationships of archer and puffer fish species. *The Open Fish Science Journal* 1:19-22.

Varela JL, Galaz T, De-la-Gándara F, Ortega-García A, Medina A, Rodriguez-Marin E (2012) Relationship between fork and intestine length in *Atlantic bluefin* tuna (*Thunnus thynnus*). *Collective Volume of Science Papers* 68:236-239.

ARTIGO 2 Óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753) no transporte de *Brycon hilarii*

Fúlvia Cristina Oliveira¹, Claudia Andréa Lima Cardoso², Cristiane Meldau de Campos^{1,3}

¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Campo Grande -MS, Brasil

²Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais, Dourados – MS, Brasil

³Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Aquidauana -MS, Brasil

Resumo

O transporte de peixes vivos é uma prática comum na piscicultura, e, é certamente um dos principais problemas que afetam a homeostase dos peixes e neste cenário o uso de aditivos naturais tem-se mostrado promissor para melhorar a resistência dos peixes frente a situações adversas. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) na qualidade de água, perfil hematológico e resíduos no plasma, filé e fígado de juvenis de piraputanga (*Brycon hilarii*) transportados por duas horas. Os peixes foram alocados em sacos plásticos (10 L) sob três doses de OE OG 10, 20 e 30 mg L⁻¹ e um grupo controle (sem adição de OE), em triplicata. Após o transporte de duas horas, os peixes foram amostrados para colheita sanguínea, eutanasiados por hipotermia e uma porção do filé e do fígado foram coletados, para a quantificação compostos do óleo essencial, sendo também quantificado no plasma. A sobrevivência durante e após o transporte foi de 100%. Os níveis de oxigênio permaneceram altos após o transporte e o pH diminuiu em todos os grupos. Após o transporte a hemoglobina, CHCM e HCM aumentaram nos peixes dos grupos OE OG 20 e 30 mg L⁻¹ em relação ao grupo controle. Houve aumento no número de neutrófilos nos peixes transportados com OE OG 10 mg L⁻¹ e redução nos peixes que receberam doses de 20 e 30 mg L⁻¹. No entanto, com o crescente aumento das doses OE OG houve aumento de linfócitos e dos compostos no plasma, filé e fígado. Dose de 10 mg L⁻¹ de OE OG no transporte de juvenis de *Brycon hilarii*, é recomendada para transporte de duas horas, pois garantiu a sobrevivências dos peixes, não afetando os parâmetros hematológicos e resultou em menor quantidade de resíduos detectados no plasma, fígado e filé.

Palavras-chave: Anestésico, fitoterápico, qualidade da água, piraputanga, resíduo.

Abstract

The transport of live fish is a common practice in fish farming, however, it is certainly one of the main problems that affect the homeostasis of other fish. The use of natural additives can be an alternative to improve fish resistance to adverse situations. This study aimed was to investigate the effects of clove basil essential oil (*Ocimum gratissimum* L.) on water quality, hematological profile, and residues in plasma, fillet and liver of juvenile piraputanga (*Brycon hilarii*) transported for duas hours. The fish were placed in plastic bags (10 L) under three doses of EO OG 10, 20, and 30 mg L⁻¹ and a control group (without the addition of EO), in triplicate. After two hours of transport, the fish were sampled for blood collection, euthanized by hypothermia, and a portion of the fillet and liver were collected for the quantification of essential oil compounds, being also quantified in plasma. Survival during and after transport was 100%. Oxygen levels remained high after transport and pH decreased in all groups. After transport, hemoglobin, CHCM and HCM increased in fish from the OE OG 30 mg L⁻¹ group. There was an increase in the number of neutrophils in fish transported with EO OG 10 mg L⁻¹ and a reduction in fish that received doses of 20 and 30 mg L⁻¹, as well as monocytes and leukocytes. However, with increasing OE OG doses, there was an increase in lymphocytes and compounds in plasma, fillet, and liver. A dose of 10 mg L⁻¹ of OE OG in the transport of juveniles of *Brycon hilarii* is recommended for a two hours transport as it guaranteed the survival of the fish, not affecting the hematological parameters and leaving a lower concentration of residues.

Keywords: Anesthetic, herbal medicine, water quality, piraputanga

1. Introdução

Nos últimos anos a produção e comercialização de peixes vivos têm se intensificado no Brasil e no mundo, principalmente, devido a produção intensiva. Diante disso, as práticas de manejo como, captura, biometrias, classificação e transporte, são cada vez mais constantes (Becker et al., 2016). O manejo de transporte envolve todas as práticas anteriores e junto com a deterioração da qualidade da água e adensamento, tornam os peixes susceptíveis a uma variedade de fatores estressantes, que podem provocar consequências negativas no desempenho produtivo (Trushenski et al., 2013; Tavares-Dias and Martins, 2017; Valladão et al., 2018).

Compostos adicionados na água de transporte para aliviar os efeitos fisiológicos do estresse e promover o bem estar dos peixes têm sido foco de estudos. Eles ocorrem por meio de vários mecanismos fisiológicos, como sedação, integridade e proteção do muco e prevenção contra doenças (Vanderzwalmen et al., 2019). Os compostos podem ser sal (Baldisseroto et al., 2007; Tacchi et al., 2015), probióticos (Carvalho et al., 2009; Sutthi; Doan, 2020) e anestésicos sintéticos (Topic Popovic et al., 2012; Bolasina et al., 2017). Os anestésicos são bastante usados na aquicultura, pois proporcionam bem-estar, reduzem o metabolismo dos peixes e conseqüentemente melhora a qualidade da água e a sobrevivência (Ross & Ross, 2008; Becker et al., 2017), mas, atualmente, é crescente a busca de anestésicos naturais extraídos de plantas, como os óleos essenciais.

Os óleos essenciais são compostos naturais, voláteis e complexos, formados por hidrocarbonetos e álcoois, substâncias odoríferas e líquidas, obtidas a partir de vegetais crus (Edris, 2007; Bakkali et al., 2008; Swamy et al., 2016) A eficácia dos óleos essenciais durante o transporte foi comprovado por alguns autores que relataram efeito sedativo, menor excreção de amônia e gasto de oxigênio, e melhora no estado imunológico e na vida útil da carne de peixe. (Benovit et al., 2012; Zeppenfeld et al., 2014; Barbas et al., 2020; Moosavi-Nasab et al., 2020; Boaventura et al., 2021). Dentre os óleos essenciais já utilizados na água de transporte de peixes podemos destacar o *Ocimum gratissimum*.

Ocimum gratissimum L. é popularmente conhecida como alfavaca-cravo ou manjeriço, pode ser encontrado no mundo todo, sendo utilizada como condimento

na culinária ou na medicina tradicional como sedativo e no tratamento de algumas doenças (Albuquerque et al., 2007). Os compostos majoritários do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OE OG) são 1,8-cineol e o eugenol que tem ação antimicrobiana (Zhang et al. 2013). Estudos anteriores investigaram o efeito do OE OG no transporte de matrinxã *Brycon cephalus* (Inoue; Santos Neto; Moraes, 2003), linguado brasileiro *Paralichthys orbignyanus* (Benovit et al., 2012), tilápia *Oreochromis niloticus* (Ferreira et al., 2021) e pacamã, *Lophiosilurus alexandri* (boaventura et al., 2021). No entanto, ainda há uma considerável ausência de estudos sobre seus efeitos quando adicionados na água de transporte.

Espécies do gênero *Brycon* tem destaque na pesca e na produção animal, devido ao seu potencial zootécnico (*B. orbignyanus*, *B. amazonicus* e *B. hilarii*), em especial a espécie *B. hilarii* é muito apreciada pela sua qualidade da carne (Zaniboni Filho; Tataje; Weingartner, 2006). Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* na qualidade de água, nos parâmetros sanguíneos e verificar se ocorre resíduos dos compostos do OE OG em *Brycon hilarii* submetidos ao transporte de duas horas.

2. Material e métodos

2.1 Animais e condições experimentais

Juvenis de piraputangas (*Brycon hilarii*), com peso de $16,54 \pm 1,65$ g e comprimento total de $11,56 \pm 0,42$ cm (média e DP), foram obtidos de piscicultura comercial e aclimatados por 30 dias em hapa de 8 m³ instaladas em um viveiro com fluxo de água contínuo com valores médios de oxigênio dissolvido 5,58 mg/L⁻¹; temperatura 29,5 °C e pH 6,48. Nesse período, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, com ração comercial extrusada contendo 36 % de proteína bruta.

Todos os procedimentos envolvendo os animais seguiram as diretrizes para procedimentos experimentais em pesquisa animal do Comitê de Ética do Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS, Aquidauana, MS, Brasil (Protocolo nº 013/2021).

2.2 Óleo essencial de *Ocimum gratissimum* e transporte

Antes do transporte os peixes (n= 108) passaram por jejum de 24 h, e posteriormente foi realizada biometria para coleta de dados referentes a peso e comprimento total e distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais como três repetições cada. As unidades experimentais, consistiram de sacos plásticos (10 L), contendo 4 litros de água aos quais foram adicionados oxigênio puro (dois terços do saco) e óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) na concentração do respectivo tratamento. A solução estoque do óleo essencial OG foi diluído em etanol 95° (1:10) para obtenção das doses testadas: grupo 1- adição de 10 mg L⁻¹ de OE OG; grupo 2- 20 mg L⁻¹ de OE OG, grupo 3- 30 mg L⁻¹ de OE OG, e um grupo controle, sem adição de OE OG. Em seguida, os sacos plásticos foram lacrados, acomodados na carroceria de um carro e transportados por duas horas em rodovia com asfalto e em estrada de terra. Em seguida, quatro peixes de cada saco (n=12 por tratamento) foram amostrados para colheita sanguínea. Após o transporte os peixes ficaram em observação por cinco dias. A composição do OE OG está apresentada na Figura 1.

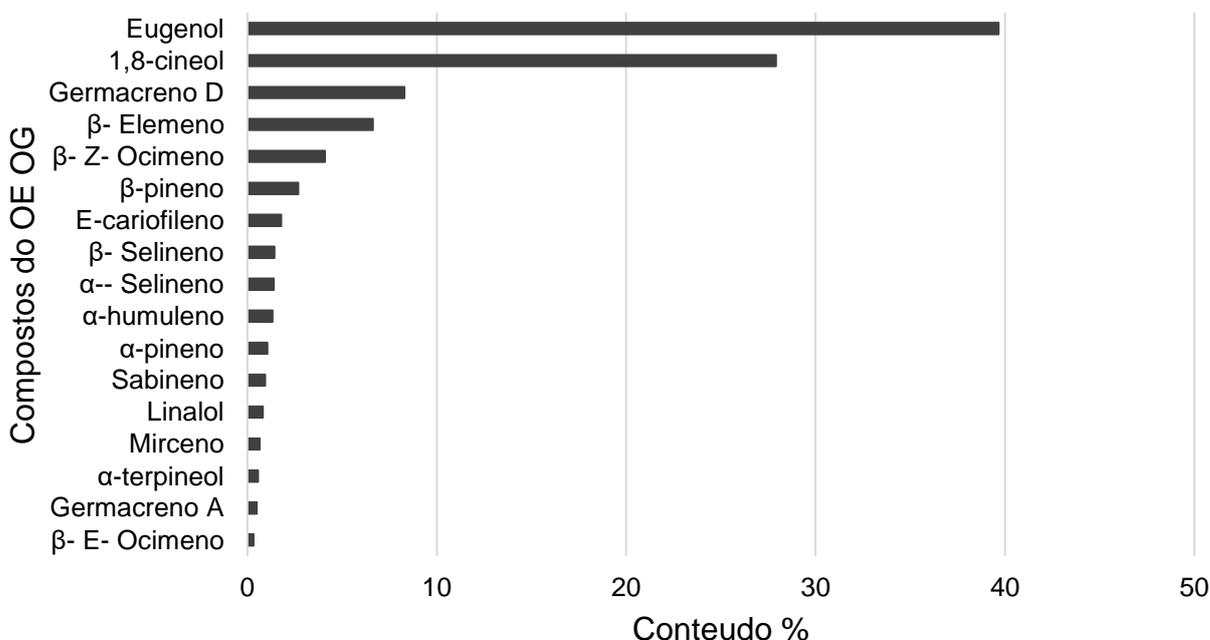


Figura 1. Composição percentual do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (OG EO) determinada por cromatografia gasosa-massa espectrometria (GC-MS).

2.3 Colheita sanguínea e análises

Amostras de sangue foram colhidas por punção do vaso caudal, utilizando-se agulhas e seringas banhadas em anticoagulante EDTA (3%). Uma parte do sangue foi centrifugado para obtenção do plasma para realização da análise dos compostos residuais.

2.4 Glicose e parâmetros hematológicos

Para análise de glicose sanguínea, uma gota do sangue foi colocada na fita de leitura do aparelho Medidor de Glicose Accu Chek Active Roche, em seguida realizada a leitura. O hematócrito (Ht) foi determinado pelo método de microhematócrito de Goldenfarb et al. (1971). Tubos microcapilares foram preenchidos com 75 % do volume e uma das extremidades vedada. Em seguida centrifugados por 5' a 1.200 rpm e a leitura dos microcapilares realizada pela tabela de leitura de hematócrito. Os níveis de hemoglobina (Hb) foram determinados por espectrometria segundo o método de cianometa-hemoglobina descrita por Collier (1944), utilizando kit Labtest e espectrofotômetro a 540 nm. A contagem do número de eritrócitos (Er) foi realizada em câmara de Neubauer após a diluição do sangue em solução de formol citrato (1:200). A partir desses dados foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM) = $Ht / Er \times 10$; concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) = $Hb / Ht \times 100$; e hemoglobina corpuscular média (HCM) = $Hb / Er \times 10$.

Extensões sanguíneas foram confeccionadas em duplicata de cada animal, secas ao ar e coradas com May Grünwald-Giemsa- Wright segundo Tavares-Dias e Moraes (2004). A contagem diferencial e total dos leucócitos foi realizada em microscópio óptico (1000 X) com auxílio de contador diferencial digital e manual.

2.5 Compostos residuais no plasma, filé e fígado

As análises foram realizadas em parceria com o Laboratório de análise Instrumental do CERNA da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – Dourados.

Os peixes da colheita sanguínea foram eutanasiados por aprofundamento hipotérmico em caixas isotérmicas com gelo. Uma porção do filé e fígado foram removidos, embalados e refrigerados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. As análises foram realizadas por cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS-2010 Ultra, Shimadzu, Kyoto, Japão), usando DB-5 (30 m de comprimento x 0,25 mm diâmetro interno, espessura 0,25 μm), nas seguintes condições: gás hélio (99,99% de pureza e fluxo $1,0\text{ mL min}^{-1}$); volume da injeção de 1 μL , split (1:20). Programação de temperatura do forno iniciou em $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ e foi até 280 a $3\text{ }^{\circ}\text{C /min}$. As identificações dos compostos foram realizadas utilizando o índice de retenção calculado, empregando o padrão de alcanos lineares (C7-C40, Sigma Aldrich com pureza $\geq 98\%$) e comparando estes dados e os espectros de massas das amostras com Adams (2007), além de comparações com a base de dados (Nist e Wiley, 2013).

As análises do plasma e dos tecidos foram realizadas empregando o mesmo equipamento e condições de análise, mas usando o modo splitless ao invés de split (1:20). A amostra OE foi preparada na concentração de $1000\text{ }\mu\text{g/ml}$ em hexano (Grau HPLC) e diluída para análise a concentração de $100\text{ }\mu\text{g/ml}$. As amostras dos tecidos (filé e fígado) foram descongeladas em ambiente com temperatura controlada ($22\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Foram pesados 2 g de cada tecido de cada peixe, em seguida adicionado 10 mL de hexano grau cromatográfico. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas e agitadas em cuba ultrassônica (L-100-Schuster) com temporizador por 30 min. A fração hexânica foi filtrada e o resíduo foi novamente extraído por 3 vezes consecutivas com a mesma amostra e as frações hexânicas unidas para posterior evaporação em capela de exaustão, que em seguida foram redissolvidas para 200 μL de hexano para análise por CG-EM.

As amostras de plasma (500 μL) foram exaustivamente extraídas com 2 mL hexano (grau cromatográfico). Para a construção da curva analítica foram empregados 1,8-cineol, β - Z- Ocimeno, Eugenol, β - Elemeno, Germacreno D nas concentrações de $0,1\text{-}100\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ para a análise do plasma e de $0,1\text{-}100\text{ }\mu\text{g Kg}^{-1}$ para a análise do filé e do fígado. Os limites de detecção e quantificação foram avaliados empregando o método da relação sinal ruído.

2.6 Qualidade da água do transporte

Os parâmetros de qualidade de água medidos, antes e após o transporte, foram: pH (peagâmetro digital, Quimis QA338); oxigênio e temperatura (oxímetro, Alfakit AT160); amônia (kit Labcon).

2.7 Estatística

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk e ao teste de homoscedasticidade Bartlett. Os parâmetros de qualidade de água foram analisados por ANOVA com uma variável independente, seguida de teste de Tukey. Os parâmetros sanguíneos e dos compostos do OE foram submetidos a ANOVA, seguido de análises regressão polinomial ($p < 0.05$). Todos os testes foram realizados no programa estatístico R versão 3.4.3 (pacote ExpDes.pt).

3. Resultados

3.1 Qualidade de água e mortalidade

As variáveis de qualidade de água e sobrevivência, antes e após o transporte, estão apresentadas na Tabela 1. Durante o transporte nenhuma mortalidade foi registrada, porém, durante o período de cinco dias de observação pós transporte foram registrados no grupo controle três mortes, e nos grupos 10 mg L⁻¹, 20 mg L⁻¹ e 30 mg L⁻¹ OE uma morte cada, não havendo diferença ($p > 0.05$). A concentração de oxigênio dissolvido após o transporte permaneceu alta no grupo controle e no grupo recebeu 20 mg de OE (12,31 e 12,08, respectivamente). Após o transporte não foi observada diferença significativa entre os tratamentos, entretanto, a temperatura estava mais alta (30 °C), e os valores significativamente ($p < 0.05$) maiores quando comparados com o valor aferido antes do transporte. O pH reduziu em todos os tratamentos, comparado ao valor antes do transporte ($p < 0.05$). A amônia não apresentou diferença entre os tratamentos ($p < 0.05$).

Tabela 1. Características da qualidade da água e sobrevivência antes e após o transporte (duas horas) de *Brycon hilarii* em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água.

Parâmetros	Antes Transporte	Após transporte (2 h)			
		Controle	OE OG 10 mg L ⁻¹	OE OG 20 mg L ⁻¹	OE OG 30 mg L ⁻¹
OD (mg/L)	5,13 ^b	12,31±3,25 ^a	8,98±1,14 ^{ab}	12,08±3,68 ^a	7,63±1,88 ^{ab}
T (°C)	26,4 ^b	30,53±1,18 ^a	30,93±0,31 ^a	30,40±0,90 ^a	30,06±0,69 ^a
pH	6,69 ^a	6,13±0,01 ^b	6,14±0,00 ^b	6,31±0,01 ^{ab}	6,26±0,01 ^b
NH ⁴	0,00 ^a	0,012±0,006 ^a	0,011±0,00 ^a	0,010±0,007 ^a	0,012±0,003 ^a
S (%)	100 ^a	88,98 ^a	96,30 ^a	96,30 ^a	96,30 ^a

Oxigênio dissolvido (OD), temperatura (T), sobrevivência (S). Os valores são expressos como média ± desvio padrão. Teste de Tukey (<0.05).

3.2 Parâmetros sanguíneos

Os parâmetros hematológicos dos juvenis de piraputanga *Brycon hilarii* após o transporte estão apresentados pelas médias ± desvio padrão. O nível de OE OG apresentou efeito quadrático para hemoglobina e CHCM, seus valores se elevaram nas doses de 20 mg⁻¹ e 30 mg L⁻¹ OE OG em relação ao grupo controle. O HCM apresentou efeito linear, os valores se elevaram conforme o aumento das doses de OE OG (Figura 2). Hematócrito, eritrócitos, VCM e glicose não apresentaram diferença ($p>0.05$) entre os tratamentos.

A contagem diferencial de células vermelhas e de leucócitos estão apresentadas na Tabela 2. O número de linfócitos apresentou efeito linear crescente, conforme o aumento das doses do OE. Neutrófilos foram evidenciados pela equação de regressão linear, o número de neutrófilos dos peixes transportados com a dose de 10 mg L⁻¹ aumentou em comparação aos peixes que não receberam OE OG na água, entretanto, reduziu com as doses de 20 mg⁻¹ e 30 mg L⁻¹. Monócitos, trombócitos e leucócitos não apresentaram diferença.

Os compostos eugenol, cineol 1,8, germacreno D, elemeno e ocimeno apresentam-se em maiores quantidades no óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, por isso, seus residuais foram verificados no plasma (Tabela 3), filé (Tabela 4) e fígado

(Tabela 5) de juvenis de piraputangas. As médias foram evidenciadas pela equação de regressão linear em todos os parâmetros, quando aumentou as doses de OE OG, aumentou a presença dos compostos residuais no plasma, filé e fígado. No tratamento controle não foi encontrado resíduos dos compostos analisados.

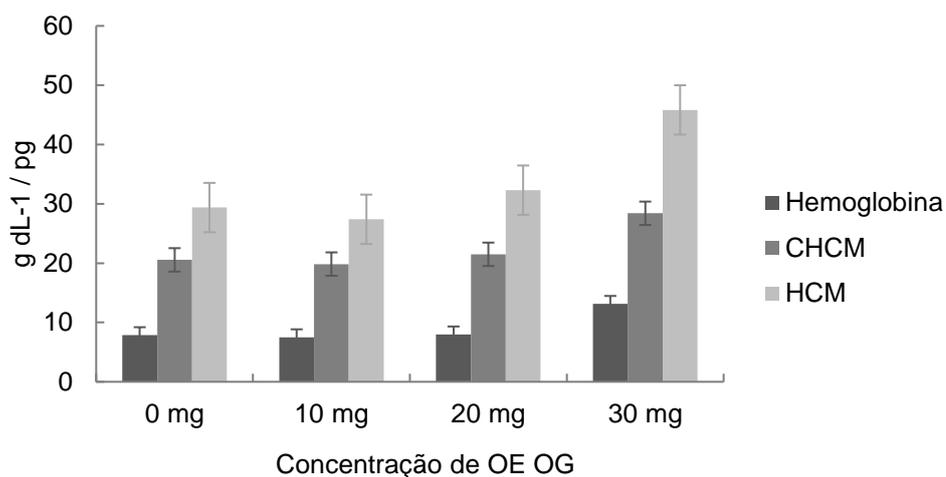


Figura 2. Médias (+SD) para hemoglobina e os índices hematimétricos CHCM e HCM de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água.

Tabela 2. Médias (+SD) da contagem diferencial e total de leucócitos de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água.

Parâmetros	Tratamentos				p-valor	Modelo regressão	R ²	CV
	Controle	OE OG 10 mg L ⁻¹	OE OG 20 mg L ⁻¹	OE OG 30 mg L ⁻¹				
Linfócitos (x10 ³ µL ⁻¹)	61,16 ± 6,56	62,94 ± 9,60	81,74 ± 31,62	116,62 ± 0,52	0.038	Y= 53.565 + 1.674x	0.85	24.14
Neutrófilos (x10 ³ µL ⁻¹)	44,85 ± 16,26	55,53 ± 5,34	23,23 ± 13,95	21,50 ± 3,24	0.040	Y= 51.635 - 1.023x	0.62	37.67
Monócitos (x10 ³ µL ⁻¹)	27,63 ± 6,90	22,67 ± 10,80	7,60 ± 1,95	11,41 ± 1,94	0.088	NS	-	54,19
Trombócitos (x10 ³ µL ⁻¹)	44,68 ± 3,49	33,34 ± 8,13	36,58 ± 9,82	44,96 ± 11,06	0.640	NS	-	33.14
Leucócitos (x10 ³ µL ⁻¹)	38,55 ± 10,98	24,91 ± 5,06	11,16 ± 1,13	19,48 ± 12,13	0.072	NS	-	46,69

Os valores são expressos como média ± desvio padrão.

Tabela 3. Médias (+SD) dos compostos residuais do plasma de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água.

Parâmetros	Tratamentos				p-valor	Modelo regressão	R ²	CV
	Controle	OE OG 10 mg L ⁻¹	OE OG 20 mg L ⁻¹	OE OG 30 mg L ⁻¹				
Eugenol (µg Kg ⁻¹)	0	9,63 ± 0,04	20,16 ± 0,17	29,6 ± 0,01	< 0.001	Y= - 0.0518+ 0.9936x	0.99	0.07
Cineol (µg Kg ⁻¹)	0	5,00 ± 0,03	11,02 ± 0,12	16,08±0,01	< 0.001	Y=-0.4256 + 0.1311x	0.93	0.49
Germacreno D (µg Kg ⁻¹)	0	1,48 ± 0,02	2,74 0,01	4,96 ± 0,04	< 0.001	Y= - 0.1282 + 0.1616x	1.00	1.14
Elemeno (µg Kg ⁻¹)	0	1,10 ± 0,02	2,23 ± 0,02	3,37 ± 0,05	< 0.001	Y= - 0.0113 + 0.1123x	0.99	2.10
Ocimeno (µg Kg ⁻¹)	0	0,77 ±0,00	1,42 ± 0,01	2,11 ± 0,02	< 0.001	Y= 0.0259 + 0.700x	0.99	1.64

Os valores são expressos como média ± desvio padrão.

Tabela 4. Médias (+SD) dos compostos residuais do filé de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água.

Parâmetros	Tratamentos				<i>p</i> -valor	Modelo regressão	R ²	CV
	Controle	OE OG 10 mg L ⁻¹	OE OG 20 mg L ⁻¹	OE OG 30 mg L ⁻¹				
Eugenol (µg Kg ⁻¹)	0	12,17 ± 0,02	24,03 ± 0,04	36,32 ± 0,09	< 0.001	Y=0.0082 + 1.2083x	0.99	0.34
Cineol (µg Kg ⁻¹)	0	7,07 ± 0,01	14,04 ± 0,01	21,04 ± 0,01	< 0.001	Y= 0.0262 + 0.7009x	0.99	0.12
Germacreno D (µg Kg ⁻¹)	0	2,15 ± 0,01	4,30 ± 0,01	6,53 ± 0,03	< 0.001	Y= - 0.0169 +0.2178x	0.99	0.63
Elemeno (µg Kg ⁻¹)	0	1,87 ± 0,01	3,10 ± 0,03	4,58 ± 0,02	< 0.001	Y= 0.1430 + 0.1497x	0.99	0.90
Ocimeno (µg Kg ⁻¹)	0	0,87 ± 0,01	1,57 ± 0,05	2,35 ± 0,01	< 0.001	Y= 0.1913 + 0.0492x	0.91	1.25

Os valores são expressos como média ± desvio padrão.

Tabela 5. Médias (+SD) dos compostos residuais do fígado de juvenis de *Brycon hilarii* após o transporte (duas horas) em sacos plásticos contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. (EO OG) na água.

Parâmetros	Tratamentos				p-valor	Modelo regressão	R ²	CV
	Controle	OE OG 10 mg L ⁻¹	OE OG 20 mg L ⁻¹	OE OG 30 mg L ⁻¹				
Eugenol (µg/Kg-1)	0	8,04 ± 0,05	17,09 ± 0,12	26,36 ± 0,04	< 0.001	Y= -0.3477 + 0.8813x	0.99	0.46
Cineol (µg Kg-1)	0	7,75 ± 2,43	10,24 ± 0,39	15,04 ± 0,02	< 0.001	Y= 1.1183 + 0.4760x	0.95	18.04
Germacreno D (µg Kg-1)	0	1,50 ± 0,01	2,66 ± 0,02	4,59 ± 0,02	< 0.001	Y= - 0.0500 + 0.1492x	0.99	0.74
Elemeno (µg Kg-1)	0	0,95 ± 0,01	1,94 ± 0,03	3,50 ± 0,03	< 0.001	Y= - 0.1262 + 0.1151x	0.98	1.22
Ocimeno (µg Kg-1)	0	0,86 ± 0,01	1,56 ± 0,03	2,35 ± 0,01	< 0.001	Y= 0.0316 + 0.0774x	0.99	0.61

Os valores são expressos como média ± desvio padrão.

4. Discussão

As doses testadas de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* na água de transporte dos juvenis de *Brycon hilarii* demonstraram serem eficientes e seguras, pois as flutuações nos parâmetros de qualidade da água e hematológicos pós transporte não prejudicaram a qualidade de água e asseguraram a sobrevivência dos peixes durante o transporte. O uso de anestésicos antes e durante o transporte é uma prática rotineira na piscicultura, pois auxilia na redução do metabolismo dos peixes, absorção de oxigênio e conseqüentemente menor produção de CO₂ e amônia (Harmon, 2009; Sampaio; Freire, 2016).

O aumento da temperatura após o transporte já era esperado, pois durante o transporte a temperatura do ar era de 32°C e as embalagens não estavam protegidas com material que evitasse a troca de temperatura. O aumento da temperatura pode aumentar o consumo de oxigênio e a concentração da amônia na água.

Os valores de amônia encontrados neste trabalho não foram prejudiciais aos peixes, a água dos animais transportados com 10 mg L⁻¹ e 20 mg L⁻¹ OE OG obtiveram concentrações menores de amônia, porém em todos os tratamentos os níveis de amônia permaneceram dentro da faixa segura para os peixes (Boyd, 1998). Em transporte com duas horas a mais de duração do que o presente trabalho, Boaventura et al. (2021) e Becker et al. (2012) encontraram níveis de amônia dentro da faixa tolerável para pacamã *Lophiosilurus alexandri*. A toxicidade da amônia pode aumentar quando a temperatura e o pH da água aumentarem, entretanto, neste estudo, observamos redução do pH após o transporte.

Um das funções do pH na água é regular a toxicidade de metabólitos como a amônia e manter o equilíbrio entre CO₂ e HCO₃⁻ liberando íons H⁺ quando os níveis de pH do sistema reduzem (Kubitza, 1998), provavelmente, foi o acúmulo de CO₂ gerado pela respiração natural dos peixes que reduziu os níveis de pH da água do transporte, causando acidificação da água (Boyd; Tucker, 2012; Kamalam et al., 2017), evitando aumento da toxicidade da amônia. Os maiores problemas encontrados no transporte de peixes em sacos plásticos, é o acúmulo de dióxido de carbono e amônia, devido os processos fisiológicos como respiração e excreção, e conseqüentemente pode gerar estresse nos peixes (Carneiro et al., 2009; Sampaio; Freire, 2016).

Outro parâmetro importantíssimo para o sistema é a concentração de oxigênio dissolvido. Os níveis de OD permaneceram altos após o transporte, isso deve-se ao uso de oxigênio puro nos sacos de transporte, prática comumente usada por produtores de peixe (Inoue et al., 2005; Sampaio; Freire, 2016). O balanço da água produzidos pelos movimentos do veículo e a saturação do oxigênio sofrida pela pressão causada no saco de transporte também podem elevar os níveis de OD (Zeppenfeld et al., 2014; Mazandarani et al., 2017). As oscilações ocorridas na água, durante o transporte, ficaram dentro dos níveis aceitáveis, uma vez que os juvenis de *Bycon hilarii* chegaram do transporte com 100% de sobrevivência.

A avaliação dos parâmetros hematológicos de peixes produzidos fornecem informações relevantes sobre a qualidade da água que vivem, e além disso, é uma ferramenta para diagnósticos e prognósticos de doenças, que são os grandes causadores de perdas econômicas na aquicultura (Sakate et al., 2009; Fazio et al., 2013; Fazio, 2019).

Os níveis de glicose dos peixes transportados com 10 mg L⁻¹ OE OG e sem OE foram maiores comparados aos peixes que receberam 20 mg L⁻¹ e 30 mg L⁻¹ OE na água de transporte, porém não significativo. Níveis altos de glicose também foram registrados por Ferreira et al. (2021) após o uso de 10 mg L⁻¹ OE OG na água de transporte de juvenil de *Oreochromis niloticus*. O aumento da concentração da glicose é uma resposta para atender a demanda metabólica e manter a homeostase, durante situações adversas, como transporte (Maricchiolo; Genovesse, 2011; Pankhurst, 2011).

A hemoglobina tem a função de transportar oxigênio e gás carbônico no sangue, e sua concentração também pode aumentar em resposta ao estresse e hipóxia, para melhorar o transporte de oxigênio e fornecer energia (Wojtaszek et al., 2002; Souza; Bonilla-Rodriguez, 2007). A dose de 30 mg L⁻¹ de OE OG na água do transporte aumentou consideravelmente a concentração de hemoglobina dos peixes, resultando em um gasto maior de oxigênio. Chagas et al. (2012) observaram aumento da concentração de hemoglobina em tambaquis alimentados com dietas contendo β-glucano, após transporte por 3 h.

Os valores dos índices hematimétricos CHCM e HCM também aumentaram na maior dose do OE OG, esses índices podem ser utilizados no controle de patologias e estresse, e refletem o estado fisiológico do animal (Silva; Lima; Blanco, 2012) e

estão ligados ao aumento da concentração da hemoglobina. Não houve diferença na contagem de eritrócito, assim como observado por Abreu et al. (2008) no transporte de 4 h de *B. amazonicus*. No geral, os valores hematológicos de juvenis de *Brycon hilarii* observados neste estudo, estão próximos as valores do perfil hematológico registrado para o gênero *Brycon*, de acordo com Dal'Bó et al. (2015).

Os leucócitos são a primeira linha de defesa imunológica e utilizam as vias sanguíneas para realizar o monitoramento de possíveis infecções e ou injúria tecidual, mudanças nos números dos diferentes tipos de células brancas é um meio de analisar o sistema imune (Tierney et al. 2004). Houve uma redução no número de neutrófilos, monócitos e leucócitos dos peixes que receberam as doses de 20 e 30 mg L⁻¹ de OE OG na água de transporte, comparados aos peixes que não receberam OE, essa redução foi em função do aumento das doses do OE OG e pode ser atribuída pelo enfraquecimento do sistema imunológico (Vosyliéné, 1999) e pela exposição dos peixes ao OE OG. Linfocitose foi observada na medida em que aumentou as doses do OE OG na água do transporte.

Os linfócitos são as células mais abundantes na maioria das espécies de peixes e responsáveis pelo reconhecimento de antígenos (Tavares-Dias, 1999; Ranzani-Paiva, 2007) assim como registrado neste estudo. Eles desempenham um papel importante na função imunológica e o aumento dessa célula pode indicar estimulação imunológica (Clauss et al., 2008; Montanha; Pimpão, 2012). Os neutrófilos têm função importante na atividade microbicida da explosão respiratória, convertendo oxigênio molecular em compostos e metabólicos provindo do oxigênio (Plyzycz et al., 1989), fatores estressantes podem aumentar o número de neutrófilos, como observado no presente estudo nos peixes transportados com dose de 10 mg L⁻¹ de OE OG.

Estudos que investiguem os resíduos que os compostos dos óleos essenciais podem deixar nos animais é importante para determinar seu uso em diversas formas. Os compostos residuais analisados do OE OG utilizado na água do transporte, foram absorvidos pelo plasma, filé e fígado dos juvenis de *B. hilarii*. As concentrações de cada composto encontrado apresentaram valores proporcionais a composição percentual do OE e da dose aplicada na água de transporte. O eugenol foi o composto majoritário encontrado no plasma, filé e fígado, seguido do 1,8 cineol, e está de acordo com a composição OE OG. Segundo (Bakkali et al., 2008) os óleos essenciais são muito complexos, podendo conter até 60 compostos em concentrações distintas, com

dois a três compostos majoritários, que geralmente determina as propriedades biológicas dos óleos.

O eugenol é um composto natural muito conhecido na aquicultura, devido seu efeito sedativo e anestésico em peixes, apresenta baixo custo e alta disponibilidade no mercado (Inoue et al., 2003), além disso possui ação analgésica, antisséptica, anti-inflamatória, antibacteriana e antifúngica (Kamatou et al., 2012; Singh et al., 2016). Após anestesia, os resíduos do eugenol no organismo do peixe são eliminados em até 24 horas (Delbon; Ranzani Paiva, 2012) e de acordo com FAO/OMS o limite de ingestão de eugenol no tecido muscular é de $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$, superior ao registrado nesse estudo que foi de $26,32 \text{ } \mu\text{g/Kg}^{-1}$. O cineol ou eucaliptol, é um composto terpênico presentes em diversos óleos essenciais de plantas, principalmente no óleo de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labbil) (NCBI, 2014), apresenta efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes (Ryu et al., 2014; Caceres et al., 2017). De acordo com Stone e Tostin, (1999), os resíduos anestésicos embora não sejam prejudiciais à saúde humana, podem afetar o sabor da carne do peixe. Por isso, é necessário um período de depuração para reduzir as concentrações dos compostos (Botreal., et al., 2017)

Estudos comprovaram que o OE de *Ocimum gratissimum* pode ser um eficiente anestésico natural (Silva et al., 2015; Ribeiro et al., 2016; Aydın and Barbas, 2020; da Silva et al., 2020), anti-helmíntico (Lima Boijink et al., 2016), imunomodulador e promotor de crescimento, quando adicionado na dieta de *O. niloticus* (Brum et al., 2017). Além de ser uma alternativa segura para o transporte em período curto, pois não prejudica os parâmetros hematológicos, porém faltam estudos para avaliar o período de depuração do OE OG no peixe.

Em conclusão, pode ser recomendado o uso de 10 mg L^{-1} de OE OG no transporte de duas horas de juvenis de *Brycon hilarii*, pois garantiu a sobrevivências dos peixes, não afetando os parâmetros hematológicos. Embora o uso do OE OG mostrou ser seguro, resíduos dos compostos foram encontrados no plasma, filé e fígado, é imprescindível estudos sobre os efeitos que esses resíduos podem causar nos peixes.

5. Referencias

- Abreu, J.S., Sanabria-Ochoa, A.I., Gonçalves, F.D., Urbinati, E.C., 2008. Stress responses of juvenile matrinxã (*Brycon amazonicus*) after transport in a closed system under different loading densities. *Cienc. Rural*, 38, 1413–1417. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000500034>
- Adams, R.P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. 4rd ed. Illinois: Allured Publishing Corporation.
- Albuquerque, U.P., Medeiros, P.M, Almeida, A.LS, Monteiro, J.M, Lins Neto, E.M.F, Melo, J.G, Santos, J.P, 2007. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 325-354.
- Aydin, B., Barbas, L.A.L., 2020. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. *Aquaculture*, 520, p.734999. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734999>
- Baldisserotto, B., Romero, J.M.M., Kapoor, B.G., 2007. *Fish Osmoregulation*. Enfield Science Publishers, p.527.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem. Toxicol.*, 46, 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Barbas, L.A.L., de Araújo, E.R.L., Torres, M.F., Maltez, L.C., Garcia, L. de O., Heinzmann, B.M., Sampaio, L.A., 2020. Stress relieving potential of two plant-based sedatives in the transport of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Aquaculture*, 520, 734681. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734681>
- Becker, A.G., Luz, R.K., Mattioli, C.C., Nakayama, C.L., de Souza e Silva, W., de Oliveira Paes Leme, F., de Mendonça Mendes, H.C.P., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2017. Can the essential oil of *Aloysia triphylla* have anesthetic effect and improve the physiological parameters of the carnivorous freshwater catfish *Lophiosilurus alexandri* after transport? *Aquaculture*, 481, 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.007>
- Becker, A.G., Parodi, T. V., Heldwein, C.G., Zeppenfeld, C.C., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2012. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water

with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. *Fish Physiol. Biochem.*, 38, 789–796. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9562-4>

Becker, A.G., Parodi, T. V., Zeppenfeld, C.C., Salbego, J., Cunha, M.A., Heldwein, C.G., Loro, V.L., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2016. Pre-sedation and transport of *Rhamdia quelen* in water containing essential oil of *Lippia alba*: metabolic and physiological responses. *Fish Physiol. Biochem.*, 42, 73–81. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0118-x>

Benovit, S.C., Gressler, L.T., de Lima Silva, L., de Oliveira Garcia, L., Okamoto, M.H., dos Santos Pedron, J., Sampaio, L.A., Rodrigues, R.V., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2012. Anesthesia and Transport of Brazilian Flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with Essential Oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. *J. World Aquac. Soc.*, 43, 896–900. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2012.00604.x>

Boaventura, T.P., Souza, C.F., Ferreira, A.L., Favero, G.C., Baldissera, M.D., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Luz, R.K., 2021. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophiosilurus alexandri*: Water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress. *Aquaculture*, 531, 735964. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735964>

Bolasina, S.N., de Azevedo, A., Petry, A.C., 2017. Comparative efficacy of benzocaine, tricaine methanesulfonate and eugenol as anesthetic agents in the guppy *Poecilia vivipara*. *Aquac. Reports.*, 6, 56–60. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.04.002>

Boyd, C.E., 1998. *Water Quality for Pond Aquaculture*. Int. Cent. Exp. Stn. Auburn, AL (USA) Auburn Univ., ICAAE.

Boyd, C.E. and Tucker, C.S., 2012. *Pond aquaculture water quality management*. NY USA: Springer Science & Business Media.

Brum, A., Pereira, S.A., Owatari, M.S., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M., Mouriño, J.L.P., Martins, M.L., 2017. Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture.*, 468, 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.020>

Caceres, A.I., Liu, B., Jabba, S.V, Achanta, S., Morris, J.B, Jordt, S.E, 2017. Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 8 channels mediate the anti-inflammatory effects of eucalyptol. *Br J Pharmacol.*, 174, 867–879.

- Carneiro, P.C., da Silva Kaiseler, P.H., Correia Swarofsky, E. de A., Baldisserotto, B., 2009. Transport of jundiá *Rhamdia quelen* juveniles at different loading densities: Water quality and blood parameters. *Neotrop. Ichthyol.*, 7, 283–288. <https://doi.org/10.1590/s1679-62252009000200021>
- Carvalho, E.S., Gomes, L.C., Brandão, F.R., Crescêncio, R., Chagas, E.C., Anselmo, A.A.S., 2009. Uso do probiótico Efinol® L durante o transporte de tambaqui. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 61, 1322–1327.
- Chagas, E.C., De Araújo, L.D., Boijink, C.D.L., Inoue, L.A., Gomes, L.D.C., Moraes, F.R., 2012. Respostas de tambaquis ao estresse por transporte após alimentação com dietas suplementadas com β -glucano. *Biotemas*, 25, 221–227. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2012v25n4p221>
- Clauss, T.M.; Dove, A.D.M.; Arnold, J.E, 2008. Hematologic disorders of fish. *Veterinary Clinics of Exotic Animal Practicce*, 11, 445-462.
- Collier, H.B, 1944. The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, 50, 550-552.
- Dal’Bó, G.A., Sampaio, F.G., Losekann, M.E., de Queiroz, J.F., Luiz, A.J.B., Wolf, V.H.G., Gonçalves, V.T., Carra, M.L., 2015. Hematological and morphometric blood value of four cultured species of economically important tropical foodfish. *Neotrop. Ichthyol.*, 13, 439–446. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20140115>
- Delbon, M.C., Ranzani Paiva, M.J.T., 2012. Eugenol Em Juvenis De Tilápia Do Nilo : Concentrações E Administrações Sucessivas Eugenol in Tilapia Juvenile : Concentrations and Successive Administrations. *Bol. do Inst. Pesca.*, 38, 10.
- Edris, A.E, 2007. Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. *Phytotherapy research*, 21, 308-323. doi: 10.1002/ptr.2072
- Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture*, 500, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>
- Fazio, F., Marafioti, S., Torre, A., Sanfilippo, M., Panzera, M., Faggio, C., 2013. Haematological and serum protein profiles of *Mugil cephalus*: Effect of two different habitats. *Ichthyol. Res.*, 60, 36–42. <https://doi.org/10.1007/s10228-012-0303-1>
- Ferreira, A.L., Favero, G.C., Boaventura, T.P., de Freitas Souza, C., Ferreira, N.S.,

- Descovi, S.N., Baldisserotto, B., Heinzmann, B.M., Luz, R.K., 2021. Essential oil of *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753): efficacy for anesthesia and transport of *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiol. Biochem.*, 47, 135–152. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00900-x>
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal of Clinical Pathology*, 56, 1, 35-39.
- Harmon, T.S., 2009. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. *Rev. Aquac.*, 1, 58–66. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01003.x>
- Inoue, L.A.K.A., Afonso, L.O.B., Iwama, G.K., Moraes, G., 2005. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. *Acta Amaz.*, 35, 289–295. <https://doi.org/10.1590/s0044-59672005000200018>
- Inoue, L.A.K.A., Santos Neto, C. dos, Moraes, G., 2003. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). *Ciência. Rural*, 33, 943–947. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782003000500023>
- Kamalam, B.S., Patiyal, R.S., Rajesh, M., Mir, J.I., Singh, A.K., 2017. Prolonged transport of rainbow trout fingerlings in plastic bags: Optimization of hauling conditions based on survival and water chemistry. *Aquaculture*, 480, 103–107. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.08.012>
- Kamtou, G.P.; Vermaeek, I.; Viljoen, A.M., 2012. Eugenol—From the Remote Maluku Islands to the International Market Place: A Review of a Remarkable and Versatile Molecule. *Molecules*, 17, 6953-6981.
- Kubitza, F., 1998. Qualidade da água na produção de peixes: parte II. *Panorama da Aquicultura*, 8 (46), 35-41.
- Lima Boijink, C., Queiroz, C.A., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M., Inoue, L.A.K.A., 2016. Anesthetic and anthelmintic effects of clove basil (*Ocimum gratissimum*) essential oil for tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture*, 457, 24–28. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.010>
- Maricchiolo, G. and Genovese, L., 2011. Some contributions to knowledge of stress response in innovative species with particular focus on the use of the anaesthetics. *The Open Marine Biology Journal*, 5, 24–33.
- Mazandarani, M., Hoseini, S.M., Dehghani Ghomshani, M., 2017. Effects of linalool on

- physiological responses of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) and water physico-chemical parameters during transportation. *Aquac. Res.*, 48, 5775–5781. <https://doi.org/10.1111/are.13400>
- Montanha, F.P., Pimpão, C.T., 2012. Efeitos toxicológicos de piretróides (cipermetrina e deltametrina) em peixes. *Rev. Científica Eletrônica Med. Veterinária*, 9, 58.
- Moosavi-Nasab, M., Mirzapour-Kouhdasht, A., Oliyaei, N., 2020. Application of Essential Oils for Shelf-Life Extension of Seafood Products. *Essent. Oils - Oils Nat.*, 1–12. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86574>
- NCBI, 2014. Substance summary for beta-caryophyllene (SID 111978172). PubChem substance.
- Pankhurst, N.W., 2011. The endocrinology of stress in fish: an environmental perspective. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 170, 265–275. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.017>.
- Plyzecz, B., Flory, C.M., Galvan, I. Bayne, C.J., Leucocytes of Rainbow trout (*Oncorhynchus myliss*) pronephros: cell types producing superoxide anion. *Developmental and Comparative Immunology*, 13, 217-224.
- Ranzani-Paiva, M.J.T, 2007. Hematologia como ferramenta para a avaliação de saúde de peixes. In: Barros, M.M., Pezzato, L.E., 2. Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes, Anais....2º. simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes, Botucatu, São Paulo. Universidade Estadual Paulista, 47-51.
- Ribeiro, A.S., Batista, E. dos S., Dairiki, J.K., Chaves, F.C.M., Inoue, L.A.K.A., 2016. Propriedades do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* como anestésico para juvenis de matrinxã. *Acta Sci. - Anim. Sci.*, 38, 1–7. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i1.28787>
- Sampaio, F.D.F., Freire, C.A., 2016. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. *Fish Fish*, 17, 1055–1072. <https://doi.org/10.1111/faf.12158>
- Ross, L.G., Ross, B., 2008. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, p. 240.
- Ryu, S., Park, H., Seol, G.H., Choi, I.Y., 2014. 1,8-Cineole ameliorates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced ischaemic injury by reducing oxidative stress in rat cortical neuron/glia. *J Pharm Pharmacol.*, 66, 1818–1826.
- Satake, F., Pádua, S.B., Ishikawa, M.M., 2009. Distúrbios morfológicos em células

sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica, in: Tavares-DiaS, M. (Org.). Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá, 330–345.

Silva, A.S.E. da, Lima, J.T.A.X. de, Blanco, B.S., 2012. Hematologia em peixes. Rev. Centauro, 3, 24–32.

Silva, L.L., Garlet, Q.I., Koakoski, G., Oliveira, T.A., Barcellos, L.J.G., Baldisserotto, B., Pereira, A.M.S., Heinzmann, B.M., 2015. Effects of anesthesia with the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. in parameters of fish stress. Rev. Bras. Plantas Med., 17, 215–223. https://doi.org/10.1590/1983-084x/13_034

Silva, L.A., Martins, M.A., Santo, F.E., Oliveira, F.C., Chaves, F.C.M., Chagas, E.C., Martins, M.L., de Campos, C.M., 2020. Essential oils of *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* as anesthetics for the South American catfish *Pseudoplatystoma reticulatum*. Aquaculture, 528, 735595. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735595>

Singh, S., Lal, R.K., Maurya, R., Chanotiya, C.S., 2018. Genetic diversity and chemotype selection in genus *Ocimum*. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 9, 19-25.

Souza, P.C., Bonilla-Rodriguez, G.O., 2007. Fish hemoglobins. Brazilian J. Med. Biol. Res. 40, 769–778. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2007000600004>

Stone, D. and Tostin, N., 1999 Clove bud oil a big yawn for silver perch. Fisheries NSW Magazine Spring, 19, 30-34.

Sutthi, N., Doan, H. Van, 2020. *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus* spp. effectively enhance health tolerance of Nile tilapia under transportation stress. Aquaculture, 528, 735527. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735527>

Swamy, M.K., Akhtar, M.S., Sinniah, U.R., 2016. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: An updated review. Evidence-based Complement. Altern. Med. <https://doi.org/10.1155/2016/3012462>

Tacchi, L., Lowrey, L., Musharrafieh, R., Crossey, K., Larragoite, E.T., Salinas, I., 2015. Effects of transportation stress and addition of salt to transport water on the skin mucosal homeostasis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 435, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.027>

Tavares-Dias, M. Sandrim, E.F.S, Campo-Filho, E, 1999. Características

- hematológicas de tambaqui (*Colossoma macropomum*) Cuvier (osteichthyes, Characidae) em sistema de monocultivo intensivo. II. Leucócitos. Revista Brasileira de Zootecnia, 16 (1), 175-184.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F. R., 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Ed. Eletrônica e Arte Final. Ribeirão Preto – SP. p. 144
- Tavares-Dias, M., Martins, M.L., 2017. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. J. Parasit. Dis., 41, 913–918. <https://doi.org/10.1007/s12639-017-0938-y>
- Tierney, K.B., Farrel, A.P., Kennedy, C.J. 2004. The differential leukocyte landscape of four teleosts: juvenile *Oncorhynchus kisutch*, *Clupea pallasii*, *Culaea inconstans* and *Pimephales promelas*. J. Fish Biol., 65, 906-919.
- Topic Popovic, N., Strunjak-Perovic, I., Coz-Rakovac, R., Barisic, J., Jadan, M., Persin Berakovic, A., Sauerborn Klobucar, R., 2012. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. J. Appl. Ichthyol., 28, 553–564. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.01950.x>
- Trushenski, J.T., Bowker, J.D., Cooke, S.J., Erdahl, D., Bell, T., MacMillan, J.R., Yanong, R.P., Hill, J.E., Fabrizio, M.C., Garvey, J.E., Sharon, S., 2013. Issues regarding the use of sedatives in fisheries and the need for immediate-release options. Trans. Am. Fish. Soc., 142, 156–170. <https://doi.org/10.1080/00028487.2012.732651>
- Tsuchiya, H., 2007. Anesthetic Agents of Plant Origin: A Review of Phytochemicals with 1376 Anesthetic Activity. Molecules, 22-8, 1-34.
- Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F., 2018. South American fish for continental aquaculture. Rev. Aquac., 10, 351–369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>
- Vanderzwalmen, M., Eaton, L., Mullen, C., Henriquez, F., Carey, P., Snellgrove, D., Sloman, K.A., 2019. The use of feed and water additives for live fish transport. Rev. Aquac., 11, 263–278. <https://doi.org/10.1111/raq.12239>
- Vosyliénė, M.Z., 1999. The effects of heavy metals on haematological indices of fish (Survey). Acta Zoologica Lituanica, 9, 76-82.
- Wojtaszek, J., Dziewulska-Szwajkowska, D., Lozińska-Gabska, M., Adamowicz, A., Dugaj, A., 2002. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): Cortisol effect on the carp blood. Gen. Comp. Endocrinol., 125, 176–183. <https://doi.org/10.1006/gcen.2001.7725>

- Zaniboni Filho, E., Tataje, D.R., Weingartner, M., 2006. Potencialidad del género Brycon en la piscicultura brasileña. Rev. Colomb. ciencias, 19.
- Zeppenfeld, C.C., Toni, C., Becker, A.G., Miron, D. dos S., Parodi, T.V., Heinzmann, B.M., Barcellos, L.J.G., Koakoski, G., Rosa, J.G.S. da, Loro, V.L., Cunha, M.A. da, Baldisserotto, B., 2014. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. Aquaculture, 418–419, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.013>
- Zhang, L.J., Xue, Y., Zhang, C.R., Hu, S.H, 2013. Antibacterial and anti-inflammatory effects of eucalyptol. Chinese Journal of Veterinary Drug., 3, 1-8.

ARTIGO 3

Lactobacillus rhamnosus* viáveis e inativos na dieta melhora a morfologia intestinal de dourados *Salminus brasiliensis

Fúlvia Cristina Oliveira¹; Cristiane Meldau de Campos^{1,2}

¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-graduação de Ciência Animal, Campo Grande - MS, Brasil.

^{1,2}Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-graduação em Zootecnia – Aquidauana - MS, Brasil.

Resumo

A prática intensiva da piscicultura junto com manejos excessivos pode desencadear surtos de doenças e prejudicar a produção. Diante disso, este estudo teve como objetivo investigar o potencial da bactéria *Lactobacillus rhamnosus* como probiótico, paraprobiótico e sua combinação sobre o desempenho zootécnico, o estado de saúde e a resistência do dourado (*Salminus brasiliensis*) infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*. Peixes com peso de $6,78 \pm 1,65$ g e comprimento total de $8,97 \pm 0,42$ cm (média \pm DP) foram distribuídos em 16 tanques circulares de polietileno de 300 litros, na densidade de 15 peixes / tanque em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e 4 repetições. Dieta sem aditivo (dieta controle), com probiótico (*L. rhamnosus* 10^8 UFC), paraprobiótico (*L. rhamnosus* 10^{10} UFC) e *L. rhamnosus* viáveis e inativos (probiótico 10^8 UFC + paraprobiótico *L. rhamnosus* 10^{10} UFC), durante 45 dias. Posteriormente, os peixes foram experimentalmente desafiados intraperitonealmente com a bactéria *A. hydrophila* ($0,82 \times 10^6$ UFC). Colheitas sanguíneas foram realizadas antes e depois do desafio bacteriano. As dietas com paraprobiótico e *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) melhoraram o fator condição dos peixes em relação ao controle e a dieta contendo probiótico. Nas análises os valores de hemoglobina, hematócrito e número de eritrócitos reduziram após a infecção. Houve aumento significativo na atividade dos leucócitos, após a infecção, independente do tratamento. As dietas com *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e paraprobiótico influenciaram positivamente altura total dos vilos e altura dos vilos sendo maiores comparadas aos peixes que receberam a dieta controle. O número de células calciformes foi maior nos peixes que receberam as dietas contendo *L.*

rhamnosus (viáveis e inativos) e probiótico e a dieta controle ($p < 0.05$). As dietas com paraprobiótico (*L. rhamnosus*) e *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) apresentaram potencial para melhorar a altura das vilosidades intestinais.

Palavras chave: probiótico, paraprobiótico, morfologia intestinal, vilosidades intestinais

Abstract

The intensive practice of fish farming together with excessive management can trigger disease outbreaks and harm production. Therefore, this study aimed to investigate the potential of the bacterium *Lactobacillus rhamnosus* as a probiotic, paraprobiotic, and their combination on growth performance, health status, and resistance of dourado (*Salminus brasiliensis*) infected with *Aeromonas hydrophila*. Fish weighing 6.78 ± 1.65 g and total length of 8.97 ± 0.42 cm (mean \pm SD) were distributed in 16 circular polyethylene tanks of 300 liters, with a density of 15 fish/tank in randomly distributed with four treatments and 4 replications. Diet without additive (control diet), with probiotic (*L. rhamnosus* 10^8 CFU), paraprobiotic (*L. rhamnosus* 10^{10} CFU), and synbiotic (probiotic *L. rhamnosus* 10^8 CFU + paraprobiotic *L. rhamnosus* 10^{10} CFU), for 45 days. Subsequently, the fish were experimentally challenged intraperitoneally with the bacterium *A. hydrophila* (0.82×10^6 CFU). Blood samples were taken before and after the bacterial challenge. The diets with paraprobiotic and synbiotic improved the condition factor of the fish in about to the control and the diet containing probiotic. There was no difference in weight and length gain, CAA, TCE, and TEP. In the analysis the values of hemoglobin, hematocrit, and number of erythrocytes. Reduced after infection. There was a significant increase in leukocyte activity after infection, regardless of treatment. The diets with synbiotic and paraprobiotic positively influenced total villi height and villi height, being higher compared to fish that received the control diet. The number of goblet cells was higher in fish that received diets containing synbiotic and probiotic and the control diet ($p < 0.05$). The diets with paraprobiotic (*L. rhamnosus*) and *L. rhamnosus* (*L. rhamnosus* viable + inactive) showed potential to improve improve the height of the intestinal villi.

Keywords: probiotic, paraprobiotic, intestinal morphology, intestinal villi

1. Introdução

Atualmente a aquicultura emergiu como a produção animal mais promissora e com a demanda cada vez maior, os imunoestimulantes estão sendo usados na alimentação como uma estratégia para potencializar os mecanismos de defesa de um organismo, aumentando a resistência do hospedeiro contra doenças infecciosas (Barman & Nen, 2013; Hoseini et al., 2020; Vallejos-Vidal et al., 2016). Nesse contexto, os probióticos podem servir como suplementos dietéticos para melhorar a resposta imune e o desempenho zootécnico (Navarrete; Tovar-Ramrez, 2014; Akhter Et Al., 2015). Os probióticos são células microbianas específicas que entram no trato gastrointestinal e são capazes de manterem-se vivas modificando a microbiota, conferindo benefícios à saúde do hospedeiro (Gatesoupe, 1999. Hoseinifar et al., 2018).

Pesquisas científicas têm reportado que os microrganismos probióticos não viáveis (mortos), conhecidos como paraprobióticos quando administradas em quantidades e frequência adequadas, também conferem benefícios ao animal (Choudhury; Kamilya, 2019; Pereira-Barros et al., 2020). No entanto são também denominados probióticos inativados ou probióticos fantasmas, pois são células microbianas não viáveis (intactas ou quebradas) ou frações celulares (Taverniti and Guglielmetti, 2011; Almada et al., 2016; Piqué et al., 2019). Já os simbióticos são uma mistura de aditivos que combinados podem conferir efeito sinérgico potencializando suas ações.

Esses aditivos vêm se destacando como imunoestimulantes e estão sendo testados em várias áreas da produção animal como frangos (Soomro et al., 2019; Abd El-Hack et al., 2020), ruminantes (Arowolo; He, 2018; Raabis; Li; Cersosimo, 2019; Mahesh; Mohanta; Patra, 2021), peixes (Rojo-Cebreros; Ibarra-Castro; Martínez-Brown, 2018; Elumalcai et al., 2020; Oliveira Et Al., 2020; El-Saadony et al., 2021) . Dentre as bactérias benéficas, encontram-se os *Lactobacillus*. Esse gênero pertence ao grupo de bactérias ácido-láticas (BAL), gram-positivas, que podem se adaptar e colonizar diferentes condições ambientais (Pfeiler & Klaenhammer, 2007). O uso destas bactérias cria um ambiente desfavorável aos patógenos, pois as BALs produzem ácidos (acético, láctico e propiônico) considerados substâncias antimicrobianas que podem inibir o crescimento de patógenos mediante a redução do pH intestinal (Naidu et al., 1999; Cebeci and Girakan, 2003; Rouse et al., 2008),

tornando o ambiente impróprio para a multiplicação dos patógenos (Desriac et al., 2010).

O uso de *Lactobacillus rhamnosus* na dieta de peixes foi relatado em diversos estudos e comprovaram o potencial da bactéria para modular a morfologia e imunidade da mucosa intestinal e a resistência a doenças em tilápias do Nilo (Pirarat et al., 2011; Xia et al., 2018), melhorar o sistema imunológico e as respostas fisiológicas de *Pargus major* sob estresse de baixa salinidade (Dawood et al., 2017). Em *Oncorhynchus mykiss* foram eficientes no controle de infecções por bactérias *Vibrio anguillarum*, *Flavobacterium psychrophilum* e *A. salmonicida* (Nikoskelainen et al., 2003). As bactérias pertencentes ao gênero *Aeromonas* estão entre os principais agentes etiológicos e são frequentemente encontradas na produção de peixes. Provocam injúrias nos peixes como septicemia hemorrágica, úlceras, exoftalmia e distensão abdominal (Brandão, 2001; Austin et al., 2012; Boijink e Mahanty et al., 2013), e são responsáveis por causar atrasos no crescimento e elevadas taxas de mortalidade (Carraschi et al., 2011), sendo um fator limitante para o desenvolvimento da aquicultura.

O potencial do Brasil para o desenvolvimento da aquicultura é imenso, além de possuir uma grande costa marítima e reservatórios de águas doces, possui também um clima extremamente favorável para crescimento dos organismos cultivados, terra disponíveis e crescente demanda por pescado no mercado interno (Valenti et al., 2021). Com inúmeras espécies com alto potencial, como o dourado (*Salminus brasiliensis*), que tem grande importância econômica e social para a pesca de subsistência e esportiva, e devido sua agressividade e voracidade é muito apreciada pelos pescadores (Della Flora et al., 2010). Atualmente, os centros de pesquisas vêm se interessando pela criação do dourado, devido seu alto potencial para piscicultura, com alto crescimento inicial e por ser eficiente no controle biológico de espécies nativas.

Diante disso, é preciso conhecer melhor o desenvolvimento dessa espécie nos sistemas de cultivos, assim como sua resistência aos manejos estressantes e a doenças. Dessa forma o objetivo do presente estudo visa conhecer o potencial da bactéria *Lactobacillus rhamnosus* como probióticos, paraprobiótico e da combinação dessas duas formas de administração sobre o desempenho zootécnico e estado de

saúde de dourados (*Salminus brasiliensis*) infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*.

2. Material e métodos

2.1. Declaração de ética

Todos os procedimentos envolvendo os animais desse estudo foram realizados seguindo os princípios éticos em experimentação animal e aprovados pelo Comitê de Ética do Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS, Aquidauana, MS, Brasil (Protocolo n° 015/2021)

2.2. Dieta experimental

Foi utilizada para a composição das dietas experimentais basais (Tabela 1) uma formulação comercial de ração (Laguna peixes carnívoros / Socil[®]) com 45% de proteína bruta. Os respectivos tratamentos probiótico (10^8 UFC), paraprobiótico (10^{10} UFC) e probiótico (10^8 UFC) + paraprobiótico (10^{10} UFC), foram adicionados a esta dieta basal. Os aditivos foram acrescentados, em suas respectivas doses, à ração comercial, por aspersão, em meio ao óleo de soja para auxiliar na incorporação da ração e posteriormente postas para secar naturalmente. Na ração controle foi adicionado apenas o óleo de soja.

O probiótico Rham GB[®] (cultura microbiana liofilizada de *Lactobacillus rhamnosus*) e o paraprobiótico Neoimuno[®] HealthCare (cepas inativas de *Lactobacillus rhamnosus*) foram doados pela empresa GABBIA Biotecnologia[®] e incorporados à dieta experimental de acordo com os tratamentos. As dietas experimentais foram analisadas pela mesma empresa quanto a presença microbiológica final do probiótico *Lactobacillus rhamnosus* em meio ágar MRS. Após 48 horas de incubação em estufa a 37° C foram realizadas as análises das placas (Tabela 2).

Tabela 1. Composição química da ração comercial

Níveis de garantia	
Nutrientes	Conteúdo (g kg ⁻¹)
Proteína Bruta	450 g kg ⁻¹
Extrato Etéreo	120 g kg ⁻¹
Fibra Bruta	45 g kg ⁻¹
Matéria Mineral	140 g kg ⁻¹
Cálcio (Mín.)	15 g kg ⁻¹
Cálcio (Máx.)	25 g kg ⁻¹
Fósforo	10 g kg ⁻¹
Umidade	120 g kg ⁻¹
Vitamina C	600 mg kg ⁻¹

Tabela 2. Presença de probiótico *Lactobacillus rhamnosus* em amostras das rações experimentais de dourado.

Tratamentos	Recuperação de <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Controle	Ausência de <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Probiótico	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 2,50 x 10 ⁷ UFC / g
Paraprobiótico	Ausência de <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos)	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 2,35 x 10 ⁷ UFC / g

2.3 Animais e condições experimentais

Os juvenis de dourados (*Salminus brasiliensis*) foram obtidos de piscicultura comercial (Projeto Pacu, Terenos, MS, Brasil) e aclimatados ao sistema experimental por 20 dias. Duzentos e quarenta peixes com peso de $6,78 \pm 1,65$ g e comprimento total de $8,97 \pm 0,42$ cm (média e DP) foram distribuídos em 16 tanques circulares de polietileno de 300 litros, com fluxo de água e aeração contínua. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos: dieta sem aditivo (dieta controle), com probiótico (*Lactobacillus rhamnosus* 10⁸ UFC), paraprobiótico (*Lactobacillus rhamnosus* 10¹⁰ UFC) e *Lactobacillus rhamnosus* (probiótico 10⁸ UFC + paraprobiótico

Lactobacillus rhamnosus 10^{10} UFC) com quatro repetições (15 peixes por repetição / taqne). Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (8h e 16h) até a saciedade aparente, durante 45 dias. As dietas fornecidas foram pesadas para calcular a quantidade de ração consumida.

Diariamente foram realizados monitoramento dos parâmetros de qualidade de água e os valores médios no período da manhã foram: pH ($6,90 \pm 0,64$); oxigênio dissolvido ($6,19 \pm 0,77$ mg/L) e temperatura ($25,03 \pm 0,87$ °C). No período da tarde pH ($7,52 \pm 0,61$); oxigênio dissolvido ($5,14 \pm 0,93$ mg/L) e temperatura ($28,37 \pm 0,87$ °C). Sempre que necessário as unidades experimentais eram sifonadas para retirada de fezes e resto de ração.

2.4. Desempenho zootécnico

Após o período de suplementação, os peixes permaneceram em jejum por 24 horas, e posteriormente foram anestesiados em solução de eugenol (50 mg L^{-1}) para biometria. Com os dados biométricos foram calculados os índices zootécnicos: ganho de peso (peso final – peso inicial); ganho de comprimento (comprimento final – comprimento inicial); conversão alimentar aparente (consumo de ração (g) / ganho de peso); taxa de eficiência proteica (ganho de peso (g) / ingestão de proteína (g) x 100); taxa de crescimento específico ((LN) peso final – (LN) peso inicial / dias de experimento), onde LN é o logaritmo normal do peso final e inicial. O fator de condição de alométrico foi calculado pela fórmula $K = W/L^b$ onde W é o peso, L o comprimento total e b é estimado pela equação da relação peso-comprimento. A taxa de sobrevivência (número de peixe inicial – número de peixe final) foi calculada após 45 dias de suplementação e após 7 dias da infecção bacteriana.

2.5 Preparação da bactéria *Aeromonas hydrophila*

A cepa de *A. hydrophila* (Cepa KJ561021) usada para o desafio foi fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos do CAUNESP/Jaboticabal- SP. Após a esterilização do meio de cultivo (BHI, ágar) em autoclave a 121°C por 20 minutos, as cepas de *A. hydrophila* foram misturadas ao mesmo e incubadas por 24 horas em estufa bacteriológica a 28°C . Após o crescimento

das colônias da bactéria, realizou-se o procedimento de lavagem com PBS (tampão fosfato esterilizado) em centrífuga a 4000g por 20 minutos por 3 vezes.

A bactéria foi diluída em 20 ml de PBS e a leitura realizada em espectrofotômetro (625 nm). A concentração estabelecida foi de $0,8 \times 10^6$ UFC e inoculado 0,1 ml da solução em cada peixe (n=40 por tratamento).

2.6 Colheita sanguínea

Após os 45 dias de suplementação, três peixes por unidade experimental foram amostrados para colheita de sangue para designar a amostra antes do desafio bacteriano. Os peixes amostrados foram retirados das unidades experimentais e os peixes que permaneceram foram desafiados por inoculação intraperitoneal com a bactéria *Aeromonas hydrophila*. Vinte e quatro horas após o desafio, novamente três peixes por unidade experimental foram amostrados para colheita de sangue.

O sangue foi colhido por punção dos vasos caudais com agulhas e seringas banhadas em anticoagulante EDTA (3%).

2.7 Parâmetros sanguíneos

O hematócrito (Ht) foi determinado pelo método de microhematócrito (Goldenfarb et al., 1971). Os níveis de hemoglobina (Hb) foram determinados por espectrometria segundo o método de cianometá-hemoglobina (Collier, 1944). A contagem do número de eritrócitos (Er) foi realizada em câmara de Neubauer após a diluição do sangue em solução de formol citrato (1:200). A partir desses dados foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM) = $Ht \times 10/Er$; concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) = $Hb \times 100/Ht$; e hemoglobina corpuscular média (HCM) = $Hb/10 \times Er$.

Extensões sanguíneas foram confeccionadas em duplicata de cada animal, as lâminas secas ao ar e coradas com May Grünwald-Giemsa- Wright (Tavares-Dias & Moraes, 2004). A contagem diferencial de leucócitos (linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos, células granulocíticas ou leucócito granular PAS (LG-PAS) e basófilos) foram realizadas em microscópio óptico (1000 X) com auxílio de contador diferencial digital.

Para análise de glicose sanguínea (glicose oxidase [GPO]) foi utilizado o aparelho medidor de Glicose Accu Chek Active Roche. A atividade dos leucócitos foi determinada segundo metodologia descrita por Biller (2013). Este método consiste em determinar as espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas pelo burst respiratório por meio de ensaio colorimétrico baseado na redução do reagente nitroblue tetrazolium (NBT), que dá origem a precipitados de material insolúvel com coloração azul escuro no interior do fagócito, denominados grânulos de formazan (KLEIN, 1990). Foi utilizado 50 µL de sangue adicionado a 50 µL de solução de nitroblue tetrazolium (NBT) a 0,2%. A solução NBT foi preparada em tampão (PBS) e incubada por 30 min a 25°C. Após o período de incubação, 50 µL da solução foi diluída em 1000 µL (1 ml) de N-dimetil formamida (DMF) e centrifugada a 3000g durante 5 min. A leitura das amostras foi determinada por espectrofotometria em comprimento de onda de 540 nm.

2.8 Análise histomorfométrica do intestino e fígado

Ao final do período experimental, dois peixes de cada unidade experimental (n = 32 por tratamento) foram eutanasiados e submetidos a uma incisão longitudinal no ventre para a exposição do intestino e fígado. Uma porção de aproximadamente 3 cm de cada amostra do intestino médio foi separada, fixada por 24 h em solução de formol a 10% e armazenadas em etanol a 70%. As amostras foram submetidas ao processamento histológico de desidratação em álcool, diafanização em xilol e inclusão em parafina. Foram realizados cortes semi-seriados de 4 µm de espessuras e coloração com hematoxilina e eosina (H & E).

Os cortes histológicos foram fotomicrografados por uma câmera fotográfica Opticam 14.0 e as variáveis foram analisadas por meio do programa Motic Images Plus 2.0 ML. Para a histomorfometria do intestino foram mensuradas: altura total das vilosidades (µm); altura das vilosidades (µm); largura do vilo (µm); espessura do epitélio (µm); lâmina própria (µm); sub mucosa (µm); camada muscular (µm); serosa (µm) e número de células caliciformes por vilosidades (un) (n=40 por região).

Para a histomorfometria do fígado 50 hepatócitos foram, aleatoriamente, amostrados para a mensuração da área (µm²) e perímetro (µm) do citoplasma, área (µm²), perímetro (µm) e diâmetro (µm) do núcleo, relação da área do núcleo/área do citoplasma ($Ranc = \text{área nuclear} / \text{área citoplasma} \times 100$), relação perímetro

núcleo/citoplasma ($R_{pnc} = \text{perímetro nuclear/perímetro citoplasma} \times 100$), volume nuclear do hepatócito ($VN (\mu\text{m}^3) = 4/3 \cdot \pi \cdot r^3$, sendo $r^3 = \text{diâmetro}/2$) e a circularidade do núcleo do hepatócito ($CN = p^2/4 \cdot \pi \cdot a$, em que $p^2 = \text{perímetro nuclear}$ e $a = \text{área nuclear}$).

2.9 Estatística

Os dados foram analisados quanto sua normalidade e homogeneidade, pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Os valores médios de cada unidade experimental foram submetidos à análise de variância como uma variável independente nos dados desempenho, histomorfométricos do intestino e dos hepatócitos (one-way ANOVA) e os parâmetros sanguíneos com duas variáveis independentes (Two-way ANOVA) em um esquema fatorial 4x2, com 4 tratamentos (dieta controle, probiótico, paraprobiótico e *L. rhamnosus* (viáveis e inativos)) e 2 tempos de coleta (antes da inoculação bacteriana e 24h após inoculação bacteriana). Os parâmetros leucócitos imaturos, monócitos, neutrófilos, leucócitos, trombócitos e atividade respiratória dos leucócitos foram transformados em Log e raiz quadrada por não apresentarem os pressupostos de normalidade e homogeneidade. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan com valor $p < 0,05$. Todos os testes foram realizados no programa estatístico R versão 3.4.3 (Pacotes ExpDes.pf).

3. Resultados

3.1 Desempenho zootécnico

A sobrevivência dos juvenis de dourados antes do desafio foi de 100% em todos os tratamentos. Os peixes alimentados com a dieta controle e com dietas contendo *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) e paraprobiótico apresentaram maior consumo diário de ração por peixe, em relação a dieta contendo probiótico, porém o consumo de ração dos peixes alimentados com a dieta contendo paraprobiótico não diferiu do consumo da dieta contendo probiótico ($p < 0,001$) (Tabela 3).

O ganho de peso, ganho de comprimento, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica, conversão alimentar aparente, fator de condição alométrico e relativo e sobrevivência, não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$).

Tabela 3. Desempenho zootécnico de dourado (*S. brasiliensis*) alimentado com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobótico (*L. rhamnosus*), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo).

Parâmetros	Tratamentos				CV
	Controle	Probiótico	Para-probiótico	<i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos)	
GP (g)	18,94±2,10	19,10±2,67	22,13±3,30	19,71±1,84	14,70
GC (cm)	4,7±0,38	4,88±0,45	5,20±0,50	5,01±0,4	9,01
TCE (%)	2,92±0,24	2,95±0,24	3,20±0,25	3,19±0,19	8,71
TEP (%)	42,09±4,67	42,46±5,94	49,17±7,34	43,81±4,09	14,70
CAA	1,26±0,14	1,08±0,10	1,01±0,15	1,15±0,07	12,49
CDR (g)	0,52±0,0 ^a	0,45±0,02 ^c	0,49±0,02 ^b	0,50±0,02 ^{ab}	3,93
Kr	1,00±0,06	1,00±0,02	1,01±0,03	0,99±0,03	4,50
Ka	0,75±0,05	0,74±0,01 ^c	0,73±0,30 ^a	0,74±0,03 ^a	5,81
S (%)	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,00	0,0

Ganho de peso- GP, Ganho de comprimento - GC, Taxa de crescimento específico - TCE, Taxa de eficiência proteica - TEP, conversão alimentar aparente - CAA, consumo diário de ração por peixe - CDR, fator de condição relativo - Kr, fato de condição alométrico - Ka e sobrevivência - S. Os valores são expressos com média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indica diferença ($p < 0,05$) Teste de Duncan.

3.2 Parâmetros sanguíneos

Não houve interação entre as dietas e o tempo de coleta nas análises hematológicas. As dietas não apresentaram diferenças entre elas, apenas entre tempos de coleta foi observada diferença ($p<0,05$). A concentração da hemoglobina diminuiu após a infecção pela bactéria *A. hydrophila*, assim como as concentrações de hematócritos e eritrócitos (Tabela 4). Os índices hematimétricos VCM, HCM e CHCM não apresentaram diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos e entre os tempos de coleta (Figura 1).

A contagem diferencial e total dos leucócitos não apresentou interação (dietas x tempo de coleta), no entanto, houve diferença nos tempos de coleta para o número

de neutrófilos ($p < 0,05$) (Tabela 5). O número de neutrófilos reduziu após da infecção da bacteriana ($p < 0,001$). Os linfócitos foram as células mais abundantes encontradas antes da infecção, no entanto, após o desafio seu número reduziu drasticamente ($p < 0,001$), bem como o número de leucócitos imaturos e monócitos ($p < 0,001$).

O número de leucócitos nos peixes alimentados com as diferentes dietas, reduziu após a infecção bacteriana ($p < 0,001$), assim como o número de trombócitos ($p < 0,001$) (Tabela 5 e 6).

Os níveis de glicose sanguínea não apresentaram diferença entre os tratamentos, apenas no tempo de coleta. Após a infecção os níveis foram reduzidos (Figura 2). A atividade respiratória dos leucócitos apresentou diferença no tempo de coleta. Após a infecção por *A. hydrophila* houve aumento significativo ($p < 0,05$) na atividade dos leucócitos, independente do tratamento (Figura 3)

A taxa de sobrevivência diminuiu após a infecção bacteriana, porém não houve diferença ($p > 0,05$) (Figura 4).

Tabela 4. Parâmetros hematológicos de dourado (*S. brasiliensis*) alimentado com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobiótico (*L. rhamnosus*), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e após infecção com *A. hydrophila*.

Tempo	Controle	Probiótico	Paraprobiótico	<i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos)	Tempo (média)	Valor <i>p</i> ANOVA
Hemoglobina (g/dL)						
Antes	13,14±3,74	12,19±3,53	11,81±3,48	11,65±3,53	12,35±3,61 ^A	Interação 0.453
Depois	10,02±2,55	9,00±2,60	8,79±2,73	9,34±2,75	9,41±2,63 ^B	Tempo 0.001
Tratamento (média)	11,97±3,42	10,95±3,55	10,42±3,60	10,20±3,48		Tratamento 0.740
Hematócrito (%)						
Before	35,9±9,00	30±9,00	32,80±8,80	27,18±8,50	31,86±8,71 ^A	Interação 0.357
Após 24h	29,66±9,16	26,9±8,73	21,87±9,75	25,6±9,61	26,58±9,06 ^B	Tempo 0.018
Tratamento (média)	33,27±9,46	29,52±9,50	27,52±9,97	26,58±9,49		Tratamento 0.183
Eritrócitos						
Antes	3,10±1,10	2,77±1,13	2,58±1,12	2,49±1,12	2,72±1,12	Interação 0.810
Depois	2,31±0,81	2,17±0,83	2,34±0,87	2,27±0,82	2,29±0,79	Tempo 0.085
Tratamento (média)	2,70±0,97	2,46±0,97	2,42±1,00	2,44±1,10		Tratamento 0.820

Os valores são expressos como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferem dentro de linhas e letras maiúsculas diferem dentro de colunas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

Tabela 5. Contagem diferencial de leucócitos de dourado (*S. brasiliensis*) alimentado com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobiótico (*L. rhamnosus*), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e depois da infecção com *A. hydrophila*.

Tempo	Controle	Probiótico	Paraprobiótico	<i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos)	Valor <i>p</i> da ANOVA	
		Linfócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)			Tempo (média)	
Antes	79,90 \pm 51,91	80,80 \pm 46,08	85,47 \pm 44,33	51,13 \pm 50,73	77,86 \pm 52,83 ^A	Interação 0.995
Depois	7,60 \pm 4,74	7,17 \pm 5,54	7,38 \pm 4,57	7,95 \pm 4,34	76,70 \pm 4,36 ^B	Tempo 0.001
Tratamento (média)	40,84 \pm 45,25	42,23 \pm 43,46	41,23 \pm 44,40	46,74 \pm 52,12		Tratamento 0.990
		Leucócito imaturo ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)			Tempo (média)	
Antes	27,80 \pm 26,36	18,40 \pm 30,11	20,15 \pm 31,82	19,52 \pm 27,44	22,55 \pm 28,09 ^A	Interação 0.971
Depois	4,88 \pm 3,29	2,64 \pm 2,99	2,24 \pm 3,13	2,37 \pm 3,46	3,05 \pm 3,36 ^B	Tempo 0.005
Tratamento (média)	14,62 \pm 21,04	10,36 \pm 21,80	14,06 \pm 22,74	12,15 \pm 21,47		Tratamento 0.962
		Monócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)			Tempo (média)	
Antes	4,80 \pm 7,08	7,95 \pm 6,86	3,26 \pm 5,61	7,14 \pm 8,26	5,99 \pm 8,26 ^A	Interação 0.644
Depois	0,18 \pm 0,20	0,28 \pm 0,18	0,13 \pm 0,18	0,18 \pm 0,26	0,26 \pm 0,25 ^B	Tempo 0.001
Tratamento (média)	2,99 \pm 5,33	3,73 \pm 5,05	1,66 \pm 4,08	4,49 \pm 6,47		Tratamento 0.595
		Neutrófilo ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)			Tempo (média)	
Antes	3,91 \pm 2,32	1,97 \pm 1,88	3,54 \pm 1,88	3,29 \pm 2,32	3,08 \pm 2,29 ^A	Interação 0.614
Depois	0,34 \pm 0,27	0,34 \pm 0,28	0,23 \pm 0,24	0,23 \pm 0,24	0,29 \pm 0,26 ^B	Tempo 0.001
Tratamento (média)	1,92 \pm 2,67	1,19 \pm 1,74	1,72 \pm 1,74	1,76 \pm 2,24		Tratamento 0.661

Os valores são expressos como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferem dentro de linhas e letras maiúsculas diferem dentro de colunas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

Tabela 6. Contagem total de dourado (*S. brasiliensis*) alimentados com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobiótico (*L. rhamnosus*), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e após infecção com *A. hydrophila*.

Tempo	Controle	Probiótico	Paraprobiótico	<i>L. rhamnosus</i> (viáveis + inativos)		Valor <i>p</i> da ANOVA
		Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}^{-1}$)			Tempo (média)	
Antes	17,01±13	11,69±10,49	12,95±15,18	9,68±11,26	12,24±13,74 ^A	Interação 0.653
Depois	2,33±1,57	1,21±1,05	11,17±10,76	1,35±1,06	1,51±1,25 ^B	Tempo 0.001
Tratamento (média)	8,95±10,83	5,43±10,71	7,76±11,08	5,36±10,26		Tratamento 0.530
		Trombócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}^{-1}$)			Tempo (média)	
Antes	28,26±23,31	18,58±14,10	31,35±24,70	23,81±22,72	24,90±20,06 ^A	Interação 0.662
Depois	3,7±2,33	1,17±1,14	2,39±2,31	4,20± 3,38	2,79±2,31 ^B	Tempo 0.001
Tratamento (média)	13,13±15,78	10,52±19,33	18,02±19,61	13,88±19		Tratamento 0.684

Os valores são expressos como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferem dentro de linhas e letras maiúsculas diferem dentro de colunas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

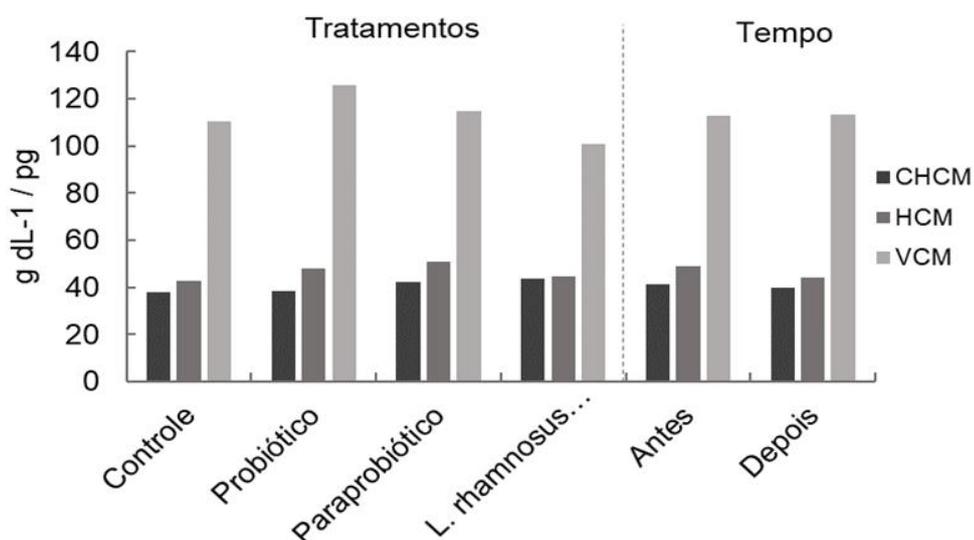


Figura 1. Índices hematimétricos CHCM, CHM e VCM de dourado (*S. brasiliensis*) alimentados com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobótico (*L. rhamnosus* inativos), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e depois infecção com *A. hydrophila*.

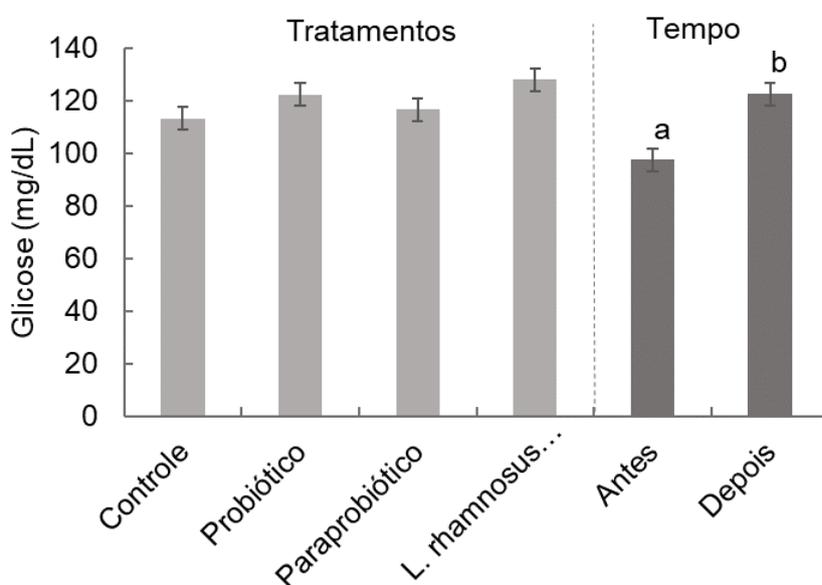


Figura 2. Níveis de glicose em dourado (*S. brasiliensis*) alimentados com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobótico (*L. rhamnosus* inativos), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e depois infecção com *A. hydrophila*.

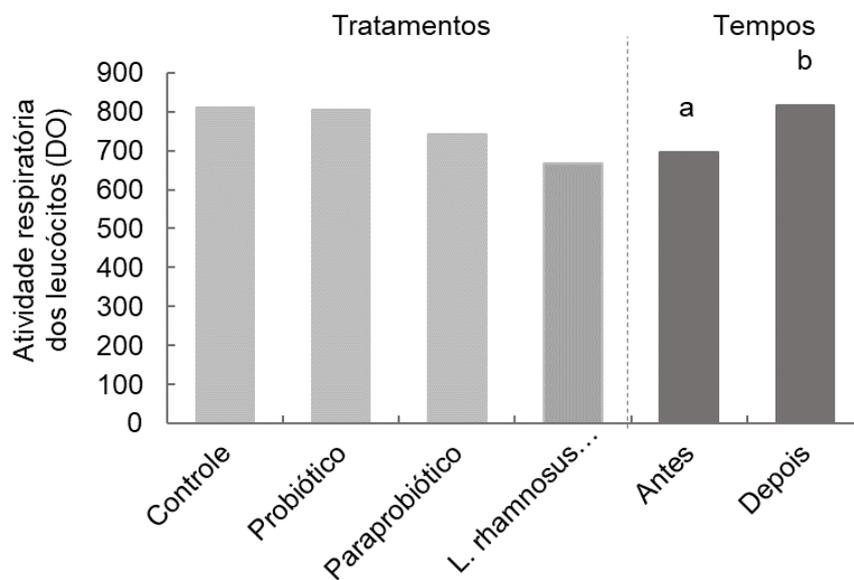


Figura 3. Atividade respiratória de leucócitos em dourado (*S. brasiliensis*) alimentados com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobiótico (*L. rhamnosus* inativos), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo) antes e depois infecção com *A. hydrophila*.

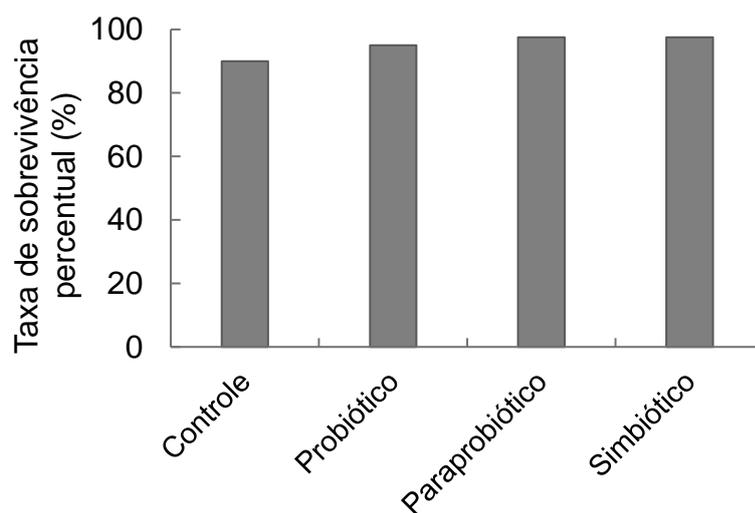


Figura 4. Taxa de sobrevivência de juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*) até 7 dias após infecção por *A. hydrophila*.

3.3 Histomorfometria do intestino e fígado

Os parâmetros histomorfométricos do intestino estão apresentados na Tabela 7. As dietas suplementadas com *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) e paraprobiótico influenciaram positivamente altura total dos vilos e altura dos vilos sendo maiores comparadas aos peixes que receberam a dieta controle. A serosa apresentou-se mais espessa nos grupos de peixes que receberam probiótico e *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) na dieta, sendo, porém só o grupo probiótico diferiu do controle ($p < 0.05$). O número de células calciformes foi maior nos peixes que receberam as dietas contendo *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) e probiótico e a dieta controle ($p < 0.05$), porém os grupos controle e probiótico não diferiram da dieta paraprobiótico, ao qual obteve menor presença de células calciformes.

Os parâmetros histomorfométricos dos hepatócitos estão apresentados na Tabela 8. A área do citoplasma dos hepatócitos dos peixes que receberam a dieta paraprobiótico foi maior ($p < 0.05$) comparados com os hepatócitos das outras dietas. O perímetro do citoplasma nos grupos paraprobiótico, probiótico e controle foram significativamente iguais e maiores ($p < 0.05$), porém o grupo controle não diferiu do grupo com *L. rhamnosus* (viáveis e inativos). A relação perímetro núcleo citoplasma dos hepatócitos foi maior ($p < 0.05$) nos peixes que receberam as dietas contendo *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) e controle, porém o controle não diferiu do probiótico. As demais variáveis não apresentaram diferença ($p > 0.05$).

Tabela 7. Parâmetros histomorfométricos do intestino de dourados (*S. brasiliensis*) alimentados com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobiótico (*L. rhamnosus*), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo)

Parâmetros	Tratamentos				CV
	Controle	Probiótico	Paraprobiótico	<i>L. rhamnosus</i> (viáveis e inativos)	
Atura total do vilo (μm)	716,66 \pm 82,66 ^{bc}	671,51 \pm 51,77 ^c	783,13 \pm 86,82 ^{ab}	868,2 \pm 52,85 ^a	24,01
Altura do vilo (μm)	625,23 \pm 75,50 ^{bc}	549,70 \pm 65,01 ^c	695,60 \pm 65,87 ^{ab}	770,81 \pm 64,52 ^a	26,09
Largura do vilo (μm)	145,58 \pm 9,71	147,57 \pm 18,14	130,49 \pm 5,87	151,31 \pm 10,94	26,09
Espessura epitélio (μm)	56,52 \pm 6,34	56,77 \pm 8,75	53,34 \pm 1,82	58,25 \pm 5,87	34,10
Lâmina própria (μm)	51,73 \pm 6,17	44,35 \pm 9,35	34,61 \pm 2,60	48,21 \pm 9,38	20,33
Sub mucosa (μm)	40,55 \pm 3,82	44,03 \pm 6,62	44,17 \pm 2,54	42,65 \pm 30,2	8,38
Camada muscular (μm)	57,47 \pm 6,49	78,69 \pm 19,82	61,25 \pm 12,38	72,6 \pm 12,94	24,48
Serosa (μm)	36,62 \pm 3,19 ^b	55,19 \pm 10,53 ^a	34,47 \pm 29,59 ^b	44,13 \pm 6,28 ^{ab}	22,47
Célula caliciformes/vilo	25,00 \pm 3,48 ^{ab}	22,00 \pm 2,04 ^{ab}	20,00 \pm 4,36 ^b	28,00 \pm 3,92 ^a	47,32

Os valores são expressos com média \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indica diferença ($p < 0,05$) teste de Duncan.

Tabela 8. Parâmetros histomorfométricos dos hepatócitos de dourados (*S. brasiliensis*) alimentados com probiótico (*L. rhamnosus*), paraprobiótico (*L. rhamnosus*), *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) e dieta controle (sem aditivo)

Parâmetros	Tratamentos				CV
	Controle	Probiótico	Paraprobiótico	<i>L. rhamnosus</i> (viáveis e inativos)	
Circularidade nuclear (0-1)	1,00±0,004	1,00±0,007	0,99±0,010	0,99±0,10	0,92
Área Núcleo (µm ²)	1,02±0,14	1,00±0,16	1,03±0,15	0,97±0,12	16,04
Área Citoplasma (µm ²)	9,03±0,97 ^b	9,16±1,04 ^b	10,07±0,88 ^a	7,80±0,89 ^b	11,74
Perímetro Núcleo (µm)	3,55±0,27	3,52±0,28	3,59±0,26	3,48±0,22	8,02
Perímetro Citoplasma (µm)	11,53±0,71 ^a	11,59±1,27 ^a	12,11±0,61 ^a	10,46±0,75 ^b	6,68
RANC	11,52±1,06	11,25±1,31	10,82±1,31	12,92±1,37	12,11
RPNC	31,00±1,52 ^b	30,54±1,34 ^b	29,80±0,91 ^b	33,92±3,08 ^a	7,20
Volume nuclear (µm ³)	0,80±0,16	0,87±0,16	0,71±0,13	0,86±0,07	16,22

Relação área do núcleo e citoplasma - RANC, Relação perímetro do núcleo e citoplasma - RPNC. Os valores são expressos com média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indica diferença (p < 0,05) teste de Duncan.

4. Discussão

Pesquisas sobre aspectos relevantes para a aquicultura como boa nutrição dos animais e uso de imunostimulantes como os probióticos, ajudam a melhorar a produtividade, saúde, o ambiente aquático e com isso controlar a susceptibilidade a doenças nos organismos aquáticos tem sido uma exigência da Organização para Alimentação e a Agricultura FAO (Kiron, 2012; Dawood et al., 2019; Amenyogbe et al., 2020; El-Saadony et al., 2021) .

A suplementação dietética com probiótico *Lactobacillus rhamnosus*, paraprobiótico *Lactobacillus rhamnosus* e a combinação de probiótico + paraprobiótico não melhorou o desempenho produtivos dos juvenis de dourados *Salminus brasiliensis* nas condições testadas.

Os juvenis de dourados desse estudo apresentaram baixa conversão alimentar aparente, em todas as dietas testadas, porém destacam-se os peixes alimentados com a dieta contendo paraprobiótico que, além de boa conversão alimentar, apresentaram ganho de peso superior, mesmo que não significativo. Cerca de 70% do custo de produção de uma piscicultura é por conta dos gastos com ração, em decorrência disso, a conversão alimentar segue sendo um dos principais fatores que crescem o custo. Diante dos dados de conversão alimentar podemos estimar o desempenho produtivo e o custo de produção, pois quanto menor o valor da conversão alimentar menor será os gastos com alimentação e mais eficiente será a produção (Kubitza, 2009).

A suplementação com probiótico, paraprobiótico e *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) não modificou as respostas hematológicas dos juvenis de *S. brasiliensis*. Segundo Fazio (2019) a avaliação do perfil hematológico é uma ferramenta importante para ajudar no diagnóstico de condições estressantes ou doenças que podem prejudicar o sistema de produção. Além disso, fornece informações importantes sobre a nutrição e a qualidade do ambiente em que vivem (Fazio et al., 2013). Após a infecção bacteriana com *A. hydrophila* as concentrações de hemoglobina, hematócrito e eritrócitos foram reduzidas, independente do tratamento.

A hemoglobina permaneceu dentro da faixa de referência proposta por Weiss et al (2010) que varia de 5 a 10 g/dL. As proteínas hemoglobinas são responsáveis pelas demandas de oxigênio, as proteínas presentes nos eritrócitos promovem a

dissolução de gás e o transporte nos tecidos, realizando assim as reações catabólicas oxidativo (Souza and Bonilla-Rodriguez, 2007). Essas funções estão adaptadas as diferentes mudanças ambientais e as necessidades metabólicas dos animais (Riggs, 1976). A infecção por *A. hydrophila* pode ter ocasionado uma redução da capacidade de transporte de oxigênio dos peixes, mas não prejudicou seu metabolismo.

Os mecanismos de ação dos paraprobiótico ainda não estão bem elucidados, no entanto, estudos reforçam a capacidade desse aditivo em modular o sistema imune (Almada et al., 2016; Barros et al., 2020) e inibir patógenos por meio da adesão nas células intestinais (Grzeskowiak et al, 2014)

Segundo Satake et al. (2009), a concentração de hematócrito de *S. brasiliensis* em condições experimentais podem variar de 36 a 45%, entretanto os apresentados nesse trabalho, antes e após a infecção bacteriana, então abaixo dos valores exposto pelo o autor. Valor reduzido de hematócrito foi registrado por Koch et al. (2018) após testarem doses de vitamina A e submeter juvenis de *S. brasiliensis* a infecção experimental com *A. hydrophila*. A diminuição do hematócrito pode estar relacionado a redução de eritrócitos após a infecção bacteriana, porém essa redução não foi abaixo dos valores de referência ($1,95 - 2,33 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$) exposto por Sakate et al., (2009). Koch et al. (2018) também observaram redução de hematócrito e eritrócitos após ao desafio. Assim como a hemoglobina, o hematócrito e eritrócitos podem ser indicadores da capacidade de transporte de oxigênios dos animais.

Os índices hematimétricos VCM, HCM e CHCM não apresentaram diferença entre os tratamentos e entre os tempos de coleta ($p > 0.05$). Esses índices podem ser usados para a identificação de perda da homeostase, quando o organismo sobre situações estressantes adversas (Tavares-Dias et al., 2009). Como estão relacionados com o tamanho dos eritrócitos, concentração da hemoglobina e hematócrito seus valores foram considerados normais.

A suplementação dietética com probiótico, paraprobiótico e *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) não alterou os parâmetros hematológicos dos juvenis de *S. brasiliensis* antes e após infecção bacteriana. Os valores reduziram, mas não causaram problemas nos peixes.

Com o crescimento da produção de alimentos surge novos desafios, como produzir alimentos eficientes que melhoram a saúde e aumentam a produtividade alimentar (Rodiles et al., 2018). Com isso, o uso de probióticos na aquicultura tem sido

uma prática conhecida, devido sua ação no desempenho produtivo, na utilização de nutrientes (Yao et al., 2021), melhora do sistema imunológico e controle de patógenos na microbiota intestinal (Thaiss et al., 2016; Brito et al., 2019). No entanto, a eficiência dos probióticos está associada a vários fatores como, a administração e dosagem apropriadas e a estabilidade da bactéria ao seu armazenamento. Uma das maiores preocupações do uso de microrganismos vivos é haver transferência de gene de um patógeno para probióticos no ambiente (Newaj-Fyzul; Al-Harbi; Austin, 2014). Uma alternativa para esse problema é a utilização de paraprobiótico, que são células microbiana não viáveis, que quando administradas em doses certas traz benefícios ao hospedeiro (Choudhury; Kamilya, 2019).

Os dourados submetidos a infecção bacteriana mostraram uma resposta de glicose reduzida em comparação ao tempo de coleta antes da infecção, independente do tratamento. A análise de glicose e cortisol são utilizadas como indicador da resposta ao estresse (Braithwaite; Ebbesson 2014). Na produção animal, os peixes são frequentemente submetidos a diferentes agentes estressores devido ao manejo de rotina (Oba et al., 2009; Portz et al., 2006). Entretanto, mudanças nas concentrações de glicose podem acontecer por vários fatores, e tem impacto multifatorial no organismo, por isso, deve ser usado como um indicador adicional para medir o estresse em peixes (Martínez-Porchas; Martínez-Córdova; Ramos-Enriquez, 2009; Bartoňková; Hyršl; Vojtek, 2016). Porém, as mudanças nas concentrações de glicose podem ocorrer minutos, horas ou até dias depois após ter sofrido uma situação adversa (Langiano; Martinez 2008). Segundo Martínez-Porchas et al., (2009) conhecer os níveis basais de glicose e cortisol plasmática das espécies experimentalmente estudadas é muito importante, pois os valores encontrados podem ser usados como referência para as espécies.

Os leucócitos são células que atuam na defesa do organismo monitorando possíveis infecções, injúria tecidual e alterações na homeostasia do animal (Mahoney; Macnulty, 1992; Satake, 1999; Secombes, 1996). Os neutrófilos formam a primeira linha de defesa celular e junto com o monócito, eosinófilo e macrófagos modulam o sistema imune inato pela fagocitose no combate a patógenos (Tavares-Dias e Moraes, 2004). Os linfócitos são as células predominantes na reação de defesa do organismo e em situações estressantes a concentração dessa célula é diminuída (Iwama; Nakanishi, 1996; Silva et al., 2012). Os linfócitos foram células dominantes em todos

os tratamentos, porém após a infecção bacteriana seu número reduziu drasticamente, em todos os tratamentos. A redução de linfócitos deve estar relacionada a inaptidão das células a reagir contra um patógeno. Da mesma forma, o número de monócitos, leucócitos imaturos, trombócitos e leucócitos também reduziram. Assim também, Claudiano et al., (2019) observaram redução no número de leucócito de *Piaractus mesopotamicus* de 1 hora a 9 horas após a infecção por *A. hydrophila*.

A estimulação da atividade respiratória dos leucócitos em peixes, após serem alimentados com dietas contendo probiótico inativados (paraprobiótico) forma registrados por Román et al. (2012) em *Sparus aurata* e *Decentrarchus labrax* fornecendo probiótico *Vagococcus fluvialis* viáveis e inativos e Muñoz-Atienza et al. (2015) em *Scophthalmus maximus* alimentados com mix de bactérias lácticas viáveis e inativadas. Entretanto, nesse estudo não foi observado efeito na ARL entre as dietas testamos, mas houve aumento da atividade após a infecção bacteriana, sugerindo que os juvenis de dourados tiveram uma resposta ao estresse sofrido. Espécies oxidativas de oxigênio (EROs) são produzidas normalmente pelo metabolismo, no entanto, a produção é controlada por um sistema de defesa antioxidante (Biller; Takahashi, 2018). A atividade respiratória dos leucócitos é um indicador da resposta imune inata e pode ser ativada após infecção por patógenos (Biller et al., 2013).

A catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase são os mecanismos enzimáticos que combatem espécies reativas de oxigênio que existe no sistema de defesa antioxidante e estão presentes nos tecidos de peixes (Storey, 1996; Van Der Oost et al., 2003). E são a primeira linha do mecanismo de defesa antioxidante contra a produção excessiva de EROs (Deyashi e Chakraborty, 2016). A CAT relaciona-se com os níveis da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) que é o radical superóxido gerado normalmente nos organismos aeróbios, durante o processo de oxidação e é responsável por catalisar a conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio (Fridovich, 1995). No presente estudo nenhum efeito significativo foi observado na atividade destas duas enzimas antioxidantes, quanto no tecido hepático quanto muscular.

As células caliciformes do trato gastrointestinal desempenham um papel importante na manutenção da homeostase e também atua como linha de frente da defesa inata do hospedeiro, (Kim & Ho, 2010; Bevins & Salzman, 2011). São responsáveis por várias enzimas digestivas e pela secreção de muco,

predominantemente mucinas, que serve como uma barreira contra microrganismos patogênicos e também atua como bactericida devido a presença de lisozima (Reid, 1988; Banan Khojasteh, 2012).

As dietas influenciaram o número de células caliciformes, a dieta contendo *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) seguida da dieta controle e probiótica, apresentaram maiores quantidades, respectivamente. Um grande número dessas células, bem como alta secreção de muco, pode ser uma resposta protetora a um possível estresse alimentar segundo Benoit et al. (2014), porém no presente estudo o aumento não foi excessivo. As dietas podem ter permitido uma maior proteção as superfícies epiteliais da mucosa intestinal contra danos físicos, e uma maior barreira de difusão para vários íons entre o conteúdo luminal e o revestimento epitelial (Vegetti et al. 1999). Trabalhos anteriores relataram maior número de células caliciformes após uso de dietas suplementadas com probiótico (Ramos et al., 2016; Standen et al., 2016).

O intestino é o principal órgão de absorção de nutrientes, e as vilosidades intestinais estão fortemente ligadas a esse processo, pois quanto maior a vilosidade maior a absorção de nutrientes (Sanchez-Amaya et al., 2007; Picoli et al., 2019). A modulação da morfologia intestinal pode contribuir consequentemente na melhoria do desempenho zootécnico, porém no presente estudo o desempenho não foi melhorado. As dietas contendo *L. rhamnosus* (viáveis e inativos) e paraprobiótico apresentaram maiores altura total dos vilos e altura dos vilos, segundo Melo et al. (2013) esse resultado se deve a ação inibitória das bactérias probióticas contra bactérias indesejáveis no intestino o que lhe garante uma maior integridade. Fonseca et al. (2020) observaram aumento nas vilosidades intestinais de tilápia do Nilo após o uso de probiótico na dieta, porém também não tiveram efeito no desempenho zootécnico, corroborando com o estudo.

Quanto aos hepatócitos, a morfologia do tecido hepático pode ser usada como biomarcadores das respostas nutricionais, das condições metabólicas e saúde dos peixes (Rašković et al., 2011; Rodrigues et al., 2017). Além disso, alterações como depleção de glicogênio, inflamação e neoplasias podem ser interpretadas como resposta ao estresse (Köhler et. al., 1992; Teh et. al., 1997). Neste estudo, os parâmetros área do citoplasma, perímetro do citoplasma e relação perímetro núcleo citoplasma que apresentaram diferenças significativas não causaram danos negativos nos hepatócitos.

Em conclusão as dietas suplementadas paraprobiótico (*L. rhamnosus*) e *L. rhamnosus* (viáveis + inativos) apresentaram potencial para melhorar a modulação a morfologia intestinal com maior comprimento das vilosidades. No entanto, é preciso adequar as doses e tempo de administração dos aditivos testados para potencializar os efeitos no sistema imunológico e reduzir os efeitos de estresse.

5. Referências

- Abd El-Hack, M.E., El-Saadony, M.T., Shafi, M.E., Qattan, S.Y.A., Batiha, G.E., Khafaga, A.F., Abdel-Moneim, A.M.E., Alagawany, M., 2020. Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, (Berl). 104, 1835–1850. <https://doi.org/10.1111/jpn.13454>
- Akhter, N., Wu, B., Memon, A.M., Mohsin, M., 2015. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review. *Fish Shellfish Immunol.*, 45, 733–741. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.038>
- Almada, Caroline N., Almada, Carine N., Martinez, R.C.R., Sant'Ana, A.S., 2016. Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 58, 96–114. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.011>
- Amenyogbe, E., Chen, G., Wang, Z., Huang, J.S., Huang, B., Li, H., 2020. The exploitation of probiotics, prebiotics and synbiotics in aquaculture: present study, limitations and future directions.: a review. *Aquac. Int.* 28, 1017–1041. <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00509-0>
- Arowolo, M.A., He, J., 2018. Use of probiotics and botanical extracts to improve ruminant production in the tropics: A review. *Anim. Nutr.*, 4, 241–249. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.010>
- Austin, B., Austin, D.A., 2012. Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish. Springer, Dordrecht 481p. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-4884-2>.
- Barman, D., Nen, P., 2013. Aquaculture Health Management: A new Approach. *J. Mar. Sci. Res. Dev.*, 03. <https://doi.org/10.4172/2155-9910.1000139>
- Barros, C.P., Guimarães, J T., Esmerino, E.A., Duarte, M.C.K.H., Silva, M.C., Silva, R., Ferreira, B.M. Sant'Ana, A.S., Freitas, M.Q., Cruz, A.G., 2019. Paraprobiotics and prostbiotics: concepts and potential applications in dairy products. *Currente Opinion in Food Science*, 32, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.003>
- Bartoňková, J., Hyršl, P., Vojtek, L., 2016. Glucose determination in fish plasma by two different moderate methods. *Acta Vet. Brno.*, 85, 349–353. <https://doi.org/10.2754/avb201685040349>
- Benoit, B., Plaisancié, P., Géloën, A., Estienne, M., Debard, C., Meugnier, E., Loizon, E., Daira, P., Bodennec, J., Cousin, O., Vidal, H., Laugurette, F., Michalski, M. C., 2014. Pasture v. standard dairy cream in highfat diet-fed mice: Improved

metabolic outcomes and stronger intestinal barrier. *British Journal of Nutrition*, 112(4):1-16. DOI:10.1017/S0007114514001172

- Bevins, C. L., Salzman, N. H., 2011. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*, 9(5), 356–368. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2546>
- Biller-Takahashi, J., Takahashi, L., Saita, M., Gimbo, R., Urbinati, E., 2013. Leukocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Brazilian J. Biol.*, 73, 425–429. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842013000200026>
- Biller, J.D., Takahashi, L.S., 2018. Oxidative stress and fish immune system: Phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *An. Acad. Bras. Cienc.*, 90, 3403–3414. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170730>
- Boijink, C.L.; Brandão, D.A., 2001. Alterações histológicas e comportamentais provocadas pela inoculação de suspensão bacteriana (*Aeromonas hydrophila*) em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Ciência Rural*, 31(4), 687-694.
- Braithwaite, V.A.; Ebbesson, L., 2014. Pain and stress responses in farmed bacteria. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 38, 13-126.
- Carraschi, S.P.; Cruz, C.; Machado Neto, J.G.; Castro, M.P.; Bortoluzzi, N.L.; Gírio, A.C.F., 2011. Eficácia do florfenicol e da oxitetraciclina no controle de *Aeromonas hydrophila* em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63 (3), 579-583.
- Barman, D. Nen, P. Mandal, S. C., Kumar, V., 2013. Aquaculture health management: A new approach. *J. Marine Sci Res Dev*, 3-4. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9910.1000139>
- Brito, J. M.; Ferreira, A.; Hosmylton, C., 2019. Desempenho zootécnico de juvenis de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com cepas probióticas e submetidos a desafio sanitário. *Ciênc. Anim. Bras.*, 20, 1-9. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v20e-37348>
- Cebeci, A.; G€urakan, C., 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiol.*, 20, 511–518.
- Choudhury, T.G., Kamilya, D., 2019. Paraprobiotics: an aquaculture perspective. *Rev. Aquac.*, 11, 1258–1270. <https://doi.org/10.1111/raq.12290>
- Claudio, G.S., Yunis-Aguinaga, J., Marinho-Neto, F.A., Miranda, R.L., Martins, I.M., Otani, F.S., Mundim, A. V., Marzocchi-Machado, C.M., Moraes, J.R.E., de Moraes, F.R., 2019. Hematological and immune changes in *Piaractus mesopotamicus* in the sepsis induced by *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.*, 88, 259–265. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.044>
- Collier, H.B., 1944. The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, 50, 550-552
- Dawood, M.A.O., Koshio, S., Abdel-Daim, M.M., Van Doan, H., 2019. Probiotic application for sustainable aquaculture. *Rev. Aquac.*, 11, 907–924. <https://doi.org/10.1111/raq.12272>

- Dawood, M.A.O., Koshio, S., Ishikawa, M., El-Sabagh, M., Yokoyama, S., Wang, W.L., Yukun, Z., Olivier, A., 2017. Physiological response, blood chemistry profile and mucus secretion of red sea bream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with *Lactobacillus rhamnosus* under low salinity stress. *Fish Physiol. Biochem.*, 43, 179–192. <https://doi.org/10.1007/s10695-016-0277-4>
- Della Flora, M. A., Maschke, F., Ferreira, C.C., Pedron, F.D.A., 2010. Biologia e cultivo do dourado (*Salminus brasiliensis*). *Acta Vet. Bras.*, 4, 7–14. <https://doi.org/10.21708/avb.2010.4.1.1492>
- Desriac F, Defer D, Bourgougnon N, Brillet B, Le Chevalier P, Fleury Y., 2010. Bacteriocin as weapons in the marine animal-associated bacteria warfare: inventory and potential applications as an aquaculture probiotic. *Mar Drugs.*, 8(4), 1153-77. doi: 10.3390/md8041153. PMID: 20479972
- Deyashi, M., Chakraborty, S. B., 2016. Pesticide induced oxidative stress and the role of antioxidant defense system in animal body. *Int. J. Biol. Med. Res.*, 2, 1–14.
- El-Saadony, M.T., Alagawany, M., Patra, A.K., Kar, I., Tiwari, R., Dawood, M.A.O., Dhama, K., Abdel-Latif, H.M.R., 2021. The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. *Fish Shellfish Immunol.*, 117, 36–52. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.07.007>
- Elumalai, P., Kurian, A., Lakshmi, S., Faggio, C., Esteban, M.A., Ringø, E., 2020. Herbal Immunomodulators in Aquaculture. *Rev. Fish. Sci. Aquac.*, 0, 1–25. <https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1779651>
- Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture*, 500, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>
- Fazio, F., Marafioti, S., Torre, A., Sanfilippo, M., Panzera, M., Faggio, C., 2013. Haematological and serum protein profiles of *Mugil cephalus*: Effect of two different habitats. *Ichthyol. Res.*, 60, 36–42. <https://doi.org/10.1007/s10228-012-0303-1>
- Fonseca, J. R. S., Carvalho, K. V., Silva, A. F. C., Freitas, J. M. A., Signor, A., Deiden, A., 2020. Effects of bac-trat® probiotic complex on growth, hematological and intestinal parameters of Nile tilapia, reared at low temperatures. *Bol. Inst. Pesca*, 46(2). Doi:10.20950/1678-2305.2020.46.2.575
- Froese, R. and Pauly, D., 2011. A Global Information System on Fishes. Disponível em:<http://www.fishbase.org> Acesso em: 09.01.2022.
- Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, v.180, p.147–165.
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal of Clinical Pathology*, 56, 1, 35-39.
- Grzeskowiak, L., Collado, M.C., Beasley, S. Salminen, S., 2014. Pathogen exclusion properties of canine probiotics are influenced by the growth media and physical treatments simulating industrial processes. *Journal of Applied Microbiology*, 116,

1308-1314.

- Hoseini, S.M., Rajabiesterabadi, H., Khalili, M., Yousefi, M., Hoseinifar, S.H., Van Doan, H., 2020. Antioxidant and immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*) anesthetized by cineole: Effects of anesthetic concentration. *Aquaculture*, 520. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734680>
- Hoseinifar, S.H., Sun, Y., Wang, A., Zhou, Z., 2018. Probiotics as Means of Diseases Control in Aquaculture , a Review of Current Knowledge and Future Perspectives. *Front. Microbiol.*, 9, 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02429>
- Iwama, G.; Nakanishi, T., 1996. *The Fish Immune System*. San Diego: Academic Press.
- Kim, Y. S., Ho, S. B., 2010. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: Recent insights and progress. *Current Gastroenterology Reports*, 12(5), 319–330. <https://doi.org/10.1007/s11894-010-0131-2>
- Kiron, V., 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal Feed Science and Technology*, 173(1): 111-133. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.015>.
- Koch, J.F.A., Sabioni, R.E., Aguilar, A. A., Lorenz, E.K., Cyrino, J.E.P., 2018. Vitamin A requirements of dourado (*Salminus brasiliensis*): Growth performance and immunological parameters. *Aquaculture*, 491, 86-93. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.03.017
- Kubitza, F., 2009. Manejo na produção de peixes. *Panor. da Aquicultura*, 108, 14–15.
- Langiano, V. C. & Martínez, C. B. R. 2009. Toxicity and effects of a glyphosphate-based herbicide on the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 147:2 22-231.
- Le Cren, E.D., 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonadal weight and condition in the perch, *Perca luviatilus*. *Journal of Animal Ecology*, London, 20, 201-219.
- Mahanty, A., Mishra, S., Bosu, R., Maurya, U.K., Netam, S., Sarkar, B., 2013. Phytoextracts Synthesized Silver Nanoparticles Inhibit Bacterial Fish Pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Indian Journal of Microbiology*, 53(4), 438-446.
- Mahesh, M.S., Mohanta, R.K., Patra, A.K., 2021. Probiotics in Livestock and Poultry Nutrition and Health, 179, 978-981. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6795-7_7.
- Mahoney, J.B., Macnulty, J.K., 1992. Diseases- associated blood changes and normal seasonal hematological variation in winter flounder in the Hudson- Raritan estuary. *Transactions of the American Fisheries Society.*, 121, 261-268.
- Martínez-Porchas, M., Rafael Martínez-Córdova, L., Ramos-Enriquez, R., 2009. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *Panam. J. Aquat. Sci.*, 4, 158–178.
- Mello, H., Moraes, J. R. E., Niza, I. G., Moraes, F. R., Ozório, R. O. A., Shimada, M., Tie, E. F., Jair, R., Claudiano, G. S., 2013. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(6), 724-

730.

- Muñoz-Atienza, E., Araújo, C., Lluch, N., Hernández, P.E., Herranz, C., Cintas, L.M., Magadán, S., 2015. Different impact of heat-inactivated and viable lactic acid bacteria of aquatic origin on turbot (*Scophthalmus maximus* L.) head-kidney leucocytes. *Fish Shellfish Immunol.*, 44, 214–223. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.02.021>
- Naidu, A.S., Bidlack, W.R., Clemens, R.A., 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 39 (1), 13-126. <https://doi.org/10.1080/10408699991279187>.
- Pfeiler, E.A., Klaenhammer, T.R., 2007. The genomics of lactic acid bacteria. *Trends in Microbiology*, 15, 546-553.
- Navarrete, P., Tovar-Ramrez, D., 2014. Use of Yeasts as Probiotics in Fish Aquaculture. *Sustain. Aquac. Tech.* <https://doi.org/10.5772/57196>
- Newaj-Fyzul, A., Al-Harbi, A.H., Austin, B., 2014. Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Aquaculture*, 431, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.026>
- Nikoskelainen, S., Ouwehand, A.C., Bylund, G., Salminen, S., Lilius, E.M., 2003. Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). *Fish Shellfish Immunol.*, 15, 443–452. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(03\)00023-8](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(03)00023-8)
- Oba, E.T., Mariano, W.S., Santos, L.R.B., 2009. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. *Embrapa Amapá, Macapá.* p.582.
- Oliveira, F., Kasai, R.Y.D., Fernandes, C.E., Souza, W., de Campos, C.M., 2020. Probiotic, prebiotic and synbiotics supplementation on growth performance and intestinal histomorphometry *Pseudoplatystoma reticulatum* larvae. *J. Appl. Aquac.*, 00, 1–15. <https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1841060>
- Pereira-Barros, C., Pessanha da Silva-Pires, R., Kasnowski-Holanda-Duarte, M.C., Queiroz de Freitas, M., Gomes da Cruz, A., 2020. Paraprobióticos como potenciais agentes promotores de saúde em produtos lácteos. *Aliment. Ciência, Tecnol. e Meio Ambient.*, 1, 139–168.
- Pfeiler, E.A., Klaenhammer, T.R., (2007. The genomics of lactic acid bacteria. *Trends Microbiol.*, 15, 546-553.
- Picoli, F., Lopes, D. L. A., Zampar, A., Serafini, S., Freccia, A., Veronezi, L. O., Ghizzo, J., Kowalksi, M. W., Emerenciano, M. G. C., 2019. Dietary bee pollen affects hepatic–intestinal histomorphometry of Nile tilapia fingerlings. *Aquaculture Research*, 1–10.
- Piqué, N., Berlanga, M., Minãma-Galbis, D., 2019. Health Benefits of Heat-Killed (Tyndallized) Probiotics_ An Overview _ Enhanced Reader.pdf.
- Pirarat, N., Pinpimai, K., Endo, M., Katagiri, T., Ponpornpisit, A., Chansue, N., Maita, M., 2011. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Res. Vet. Sci.*, 91, 92–

97. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.02.014>

- Portz, D.E., Woodley, C.M., Cech, J.J., 2006. Stress-associated impacts of short-term holding on fishes. *Rev Fish Biol. Fisheries*, 16, 125–170. <https://doi.org/10.1007/s11160-006-9012-z>
- Raabis, S., Li, W., Cersosimo, L., 2019. Effects and immune responses of probiotic treatment in ruminants. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 208, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.12.006>
- Ramos, M. A., Batista, S., Pires, M. A., Silva, A. P., Pereira, L. F., Saavedra, M. J., Ozório, R. O. A., Rema, P., 2017. Dietary probiotic supplementation improves growth and the intestinal morphology of Nile tilapia. *Animal*, 11(8), 1259-1269. doi:10.1017/S1751731116002792
- Reid, P. E., Volz, D., Cho, K. Y., Owen, D. A., 1988. A new method for the histochemical demonstration of O-acyl sugars in human colonic epithelial glycoproteins. *The Histochemical Journal*, 20(9), 510–518. <https://doi.org/10.1007/BF01002649>
- Rodiles, A., Rawling, M. D., Peggs, D. L., Pereira, G. V., Voller, S., Yomla, R., Standen, B. T., Bowyer, P., Merrifield, D. L. 2018. Probiotic Applications for Finfish Aquaculture. In: Di Gioia D., Biavati B. (eds) *Probiotics and Prebiotics in Animal Health and Food Safety*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71950-4_8
- Rojo-Cebreros, A.H., Ibarra-Castro, L., Martínez-Brown, J.M., 2018. Immunostimulation and trained immunity in marine fish larvae. *Fish Shellfish Immunol.*, 80, 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.044>
- Román, L., Real, F., Sorroza, L., Padilla, D., Acosta, B., Grasso, V., Bravo, J., Acosta, F., 2012. The in vitro effect of probiotic *Vagococcus fluvialis* on the innate immune parameters of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish Shellfish Immunol.*, 33, 1071–1075. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.06.028>
- Rouse, S., Harnett, D., Vaughan, A., Van Sinderen, D., 2007. Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods. *Journal of Applied Microbiology.*, 104, 915-923.
- Riggs A., 1976. Factors in the evolution of hemoglobin function. *Fed Pro.*, 35: 2115-2118.
- Sanchez-Amaya, M. I., Ortiz-Delgado, J. B., Garcia-Lopez, A., Cardenas, S., Sarasquet, C., 2007. Larval ontogeny of red banded seabream *Pagrus auriga* valenciensis, 1843 with special reference to the digestive system. A histological and histochemical approach. *Aquaculture*, 263(1–4), 259–279. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.10.036>
- Satake, F., Ishikawa, M.M., Hisano, H., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., 2009. Relações peso-comprimento, gator de condição e parâmetros hematológicos de dourado *Salminus brasiliensis* cultivado em condições experimentais / Fabiana Sakate...(et al.) Dourados, MS: embrapa Agropecuária Oeste, 2009. 22 p. (boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / ISSN 1679-0456 ;51)

- Secombes, C.J., 1996. The non-specific immune system: cellular defenses. In: IWANA, G.; NAKANISHI, T. (Ed). The fish immune system. London: Academic Press., 95-103.
- Silva, R.D., Rocha, L.O., Fortes, B.D.A., Vieira, D., Fioravanti, M.C.S., 2012. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. *Pesq. Vet. Bras.*, 32(1): 99-107. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012001300017>
- Soomro, R. N., Abd El-Hack, M. E., Shah, S. S., Taha, A. E., Alagawany, M., Swelum, A. A., Hussein, E. O. S., Ba-Aawdh, H. A., Saadeldin, I., El-Edel, M. A., & Tufarelli, V., 2019. Impact of restricting feed and probiotic supplementation on growth performance, mortality and carcass traits of meat-type quails. *Animal Science Journal*, 90(10), 1388–1395. <https://doi.org/10.1111/asj.13290>
- Souza, P.C., Bonilla-Rodriguez, G.O., 2007. Fish hemoglobins. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 40, 769–778. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2007000600004>
- Standen, B. T., Peggs, D. L., Rawling, M. D., Foey, A., Davies, S. J., Santos, G. A., Merrifield, D. L., 2016. Dietary administration of a commercial mixed-species probiotic improves growth performance and modulates the intestinal immunity of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 49, 427–435.
- Storey, K. B., 1996. Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Braz. J. Med. Hist. Res.*, 96, 1715-1733
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R., 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Ed. Eletrônica e Arte Final. Ribeirão Preto – SP. p. 144
- Tavares-Dias, M., Moraes, F., Martins, M.L., 2008. Hematological assessment in four Brazilian teleost fish with parasitic infections, collected in feefishing from Franca, São Paulo, Brazil. *B. Inst. Pesca, São Paulo*, 32 (2), 189-196.
- Tavares Dias, M.; Ishikawa, M.M.; Martins, M.L., Satake, F., Hisano, H., Pádua, S.B., Jerônimo, G.T., Sá, A. R.S. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. In: SARAN-NETO; MARIANO, W.S.; POZZOBON-SORIA. Tópicos Especiais em Saúde e Criação Animal. São Carlos: Pedro & João Editores, 2009. cap. 3, 43-80 p.
- Taverniti, V., Guglielmetti, S., 2011. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: Proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr.*, 6, 261–274. <https://doi.org/10.1007/s12263-011-0218-x>
- Thaiss, C. A.; Zmora, N.; Levy, M.; Elinav, E., 2016. The microbiome and innate immunity. *Nature*, 535, 65-74. <https://doi.org/10.1038/nature18847>
- Köhler, T. P., 1992. Molecular and Biochemical Responses of Fish to Stressors and Their Potential Use in Environmental Monitoring. *Amer. Fish. Soc. Symp.*, 8, 9 – 28.
- Valenti, W.C., Barros, H.P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G.W., Cavalli, R.O., 2021. Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquac. Reports*, 19, 100611. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100611>
- Vallejos-Vidal, E., Reyes-López, F., Teles, M., MacKenzie, S., 2016. The response of

fish to immunostimulant diets. *Fish Shellfish Immunol.*, 56, 34–69. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.06.028>

Van Der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N. P. E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13, 57-149.

Veggetti, A., Rowlerson, A., Radaelli, G., Arrighi, S., Domeneghini, C., 1999. Post-hatching development of the gut and lateral muscle in the sole. *Journal of Fish Biology*, 55(AS), 44–65. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb01045.x>

Yao, W., Li, X., Zhang, C., Wang, J., Cai, Y., Leng, X., 2021. Effects of dietary synbiotics supplementaation methods on growth, intestinal health, non-specific immunity and disease resistance of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.*, 112, 46-55. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.02.011>

Weiss, D.J., Wardrop, J., Schalm, O.W., 2010. Schalm'sveterinary hematology. 6 ed. Iowa: Blackwell Publishing, 1206p

Xia, Y., Lu, M., Chen, G., Cao, J., Gao, F., Wang, M., Liu, Z., Zhang, D., Zhu, H., Yi, M., 2018. Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* JCM1136 and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM5805 on the growth, intestinal microbiota, morphology, immune response and disease resistance of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 76, 368–379. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.03.020>