



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Domickson Silva Costa

**Respostas hematoimunológicas de juvenis de tilápia-do-nilo suplementados
dieteticamente com ração com imunomoduladores e diferentes níveis de vitamina após
estresse físico e agudo**

Florianópolis

2022

Domickson Silva Costa

Respostas hematoimunológicas de juvenis de tilápia-do-nilo suplementados dieteticamente com ração com imunomoduladores e diferentes níveis de vitamina após estresse físico e agudo

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Laterça Martins
Coorientador: Dr^a Scheila Anelise Pereira Dutra

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Costa, Domickson Silva

Respostas hematoimunológicas de juvenis de tilápia-do
nilo suplementados dieteticamente com ração com
imunomoduladores e diferentes níveis de vitamina após
estresse físico e agudo / Domickson Silva Costa ;
orientador, Maurício Laterça Martins, coorientador, Scheila
Anelise Pereira Dutra, 2022.

69 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós
Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Suplementação. 3. Estresse. 4.
Sistema imune. 5. Efeito imunomodulador. I. Martins,
Maurício Laterça . II. Dutra, Scheila Anelise Pereira . III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Domickson Silva Costa

Respostas hematoimunológicas de juvenis de tilápia-do-nilo suplementados dieteticamente com ração com imunomoduladores e diferentes níveis de vitamina após estresse físico e agudo

O presente trabalho no nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Maurício Laterça Martins, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof. Marcos Tavares Dias, Dr.
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Amapá

Prof. José Luiz Pedreira Mouriño, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão de curso que fui julgado adequado para obtenção do título de mestre em Aquicultura.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Maurício Laterça Martins, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2022.

Dedico

À minha mãe Maricelia,

Ao meu pai Domivaldo,

Aos meus irmãos Júnior, Keké e Leticia,

Aos meus sobrinhos Rihana, Thomaz e Miguel,

Ao meu amigão Arthur Ramos,

Por serem meu porto seguro.

Ofereço à todas as vítimas da COVID 19

(In memoriam)

AGRADECIMENTOS

À Deus por me proporcionar o milagre da vida, pela proteção e por ser meu refúgio nos momentos mais desesperadores.

Aos meus pais, por todos os ensinamentos, amor, compreensão e companheirismo. Obrigado pelo apoio e por se fazerem presentes mesmo distantes fisicamente. No mais, obrigado por existirem, vocês são o grande trampolim dessa conquista.

Aos meus irmãos, por todo carinho e companheirismo apesar da barreira física.

À minha avó, pelos ensinamentos muitas vezes através de um “puxão de orelha”, por ser exemplo de amor e obrigado pela proteção concedida através de suas orações.

Às razões da minha vida, meus sobrinhos, por inundarem meu ser de alegria e ternura e me incentivar a ser melhor.

Às minhas tias, Catiana e Tati, pelo amor e carinho e por serem minhas amigas.

Ao meu orientador Maurício Laterça Martins, pela oportunidade de integrar a equipe do Lab AQUOS, pelos ensinamentos, pela paixão à ciência e pela amizade.

À minha coorientadora, Scheila Anelise Pereira, por toda ajuda, toda orientação, por estar presente naqueles momentos desesperadores e sobretudo, pela amizade.

Ao Núcleo de Estudos em Patologia Aquícola (NEPAq) e seus servidores, Juliano, André e Simone, pelo auxílio e companhia nos feriados e domingo.

Ao Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS) e aos amigos Paula, Gracienhe, Roberta, Maria Clara, Lucas, Elenice, Kennya, Tamires, Marília e Sílvia, vocês foram fundamentais.

Ao Laboratório de Nutrição (LabNutri), pelo acolhimento e produção da ração.

Ao meu amigo Arthur Souza Ramos, por todo suporte com o bioensaio, pelos momentos únicos de alegria e por sempre estar ao meu lado. Obrigado pela amizade e companheirismo, sem dúvida você foi fundamental. “Devo agradecer?!”.

À Universidade Federal de Santa Catarina, pelos momentos ímpares proporcionados e por ser minha casa.

À DSM – Produtos nutricionais, pelo apoio.

Agradeço inestimavelmente todos aqueles que acreditaram em mim. Agradeço cada palavra de incentivo, cada pensamento e energia positiva, nada disso seria possível sem vocês.

O presente estudo foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*“Carregamos dentro de nós as coisas
extraordinárias que procuramos à nossa volta.”*

R. J. Palacio, 2012

RESUMO

As perdas no cultivo de peixes estão correlatas a inúmeros fatores como: doenças parasitárias, fúngicas, bacterianas, manejo inadequado e temperaturas baixas. Estes obstáculos somados a problemática do uso indiscriminado de antibióticos, desperta interesse no uso de produtos menos agressivos e que promovam o fortalecimento do sistema imunológico dos peixes. A exemplo disso, cita-se: vitaminas e imunomoduladores como β -glucanos e nucleotídeos. As vitaminas são micronutrientes envolvidas nos processos fisiológicos e metabólicos, sua deficiência ocasiona deformidade esquelética, redução do crescimento, exoftalmia e mortalidade. Os β -glucanos e nucleotídeos são produtos não virulentos conhecidos por estimular o mecanismo de defesa inato, aumentar atividade fagocitária de macrófagos, combater patógenos e estresse. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos hematoimunológicos da suplementação dietética conjunta de imunomoduladores (β -glucanos-nucleotídeos) e diferentes níveis de vitaminas para tilápia-do-nilo após estresse físico e agudo. Para tanto, foram utilizados 4 tratamentos com dietas experimentais distintas: ração com nível indicado de vitamina (Vit_{ind}); Vit_{ind} + Imunomodulador (0,5%) (Vit_{ind+Immune}); ração com alto nível de vitamina (Vit_{high}); Vit_{high} + Imunomodulador (0,5%) (Vit_{high+Immune}). O delineamento experimental contou com 560 peixes (3,0 \pm 0,68 g de peso inicial e 5,33 \pm 0,66 cm de comprimento inicial), em 28 tanques e 25 peixes por tanque, com 7 repetições. Após 60 dias de suplementação, os animais tinham peso de 33,30 \pm 7,6 g e comprimento de 11,97 \pm 0,94 cm, a temperatura da água foi regulada para 20°C e realizada duas biometrias completas. Posteriormente, os animais foram condicionados a dois fatores estressantes: físico (I), com três oscilações de temperatura: 20°C para 30°C/30°C para 20°C/20°C para 30°C; agudo (II), onde os mesmos animais foram acondicionados em sacos plásticos com água de clorada e agitados por 5 minutos e devolvidos para seus respectivos tanques. Para coleta de dados hematoimunológicos, foram utilizados 140 animais após o estresse. A análise dos dados foi realizada utilizando ANOVA bifatorial. Nos parâmetros imunológicos, o título antimicrobiano e a proteína total plasmática foram significativamente maiores nos peixes que não receberam imunomodulador. Diferentemente, o título aglutinante aumentou nos peixes alimentados com menor nível de vitamina, enquanto a imunoglobulina apresentou interação do nível de vitamina \times imunomodulador, com maior concentração em Pre_{high+Immune}. Em conclusão, a inclusão de imunomoduladores aumentou a resistência dos animais ao estresse físico e agudo, melhorou os parâmetros hematoimunológicos, e o alto nível de vitamina não parece modular as respostas imunes.

Palavras-chave: Aquicultura. Suplementação. Estresse. Sistema imune. Efeito imunomodulador.

ABSTRACT

Losses in fish farming are correlated to numerous factors, such as parasitic, fungal, bacterial diseases, inadequate management and low temperatures. Such obstacles added to the problem of the indiscriminate use of antibiotics, arouses interest in the use of less aggressive products that promote the strengthening of the immune system of fish. As for example, vitamins, immunomodulators such as β -glucans and nucleotides have been studied. Vitamins are micronutrients involved in physiological and metabolic processes, their deficiency causes skeletal deformity, reduced growth, exophthalmos and mortality. The β -glucans and nucleotides are non-virulent products known to stimulate the innate defense mechanism, increase macrophage phagocytic activity, fight pathogens and stress. Thus, the aim of this study was to analyze the hematoimmunological effects of joint dietary supplementation of immunomodulators (β -glucans-nucleotides) and different levels of vitamins for Nile tilapia after physical and acute stress. For that, 4 treatments with different experimental diets were used: food with indicated level of vitamin (Vit_{ind}); Vit_{ind} + Immunomodulator 0.5% (Vit_{ind+Immune}); food with a high level of vitamin (Vit_{high}), Vit_{high} + immunomodulator 0.5% (Vit_{high+Immune}). The experimental design included 560 fish (3.0 ± 0.68 g of initial weight and 5.33 ± 0.66 cm of initial length), in 28 tanks and 25 fish per tank, with 7 replications. After 60 days of supplementation, the animals had a weight of 33.30 ± 7.6 g and a length of 11.97 ± 0.94 cm, the water temperature was set to 20°C and two complete biometries were performed. Subsequently, the animals were conditioned to two stress factors: physical (I), with three temperature fluctuations: 20°C to 30°C/30°C to 20°C/20°C to 30°C; acute (II), where the same animals were placed in plastic bags with dechlorinated water and shaken for 5 minutes and returned to their respective tanks. To collect hematoimmunological data, 140 animals were used after stress. Data analysis was performed using two-way ANOVA. In the immunological parameters, the antimicrobial titer and total plasma protein were significantly higher in fish that did not receive immunomodulator. Differently, the agglutinating titer increased in fish fed with lower levels of vitamin, while the immunoglobulin showed interaction of the level of vitamin x immunomodulator, with higher concentration in Pre high+Immune. In summary, the inclusion of immunomodulators increased the animals' resistance to physical and acute stress, improved hematoimmunological parameters, and the high level of vitamin did not seem to modulate immune responses.

Keywords: Aquaculture. Supplementation. Stress. Immune system. Immunomodulatory effect.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Esquema de atuação e interação dos β -glucanos com as células fagocitárias.....25
- Figura 2** - Título antimicrobiano e Título de Aglutinação de tilápia-do-nilo após 60 dias com dietas suplementadas com: ração com nível indicado de vitamina (Vit_{ind}); Vit_{ind} + Imunomodulador (Vit_{ind+Immune}); alto nível de vitamina (Vit_{high}); Vit_{high} + Imunomodulador (Vit_{high+Immune}). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística quanto o nível de vitamina (A,B) e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística na inclusão de imunomodulador (a,b).....41
- Figura 3** - Proteína Total Plasmática e Imunoglobulina de tilapia-do-nilo após 60 dias de dieta suplementada com: ração com nível indicado de vitamina (Vit_{ind}); Vit_{ind} + Imunomodulador (Vit_{ind+Immune}); alto nível de vitamina (Vit_{high}); Vit_{high} + Imunomodulador (Vit_{high+Immune}). Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística na inclusão de imunomodulador (a,b) e letras (x,y) indicam interação entre os fatores42

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Exigências nutricionais para juvenis de tilápia-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).... | 21 |
| Tabela 2 - Comparação de nutrientes e suas respectivas concentrações de três diferentes Premix (A, B, C) que estão disponíveis no mercado | 22 |
| Tabela 3 - Formulação e composição centesimal das dietas experimentais: Ração com nível indicado de vitamina Premix (Vit _{ind}); Vit _{ind} + Imunomodulador (Vit _{ind+immune}); Ração com nível alto de vitamina (Vit _{high}); Vit _{high} + imunomodulador (Vit _{high+immune})..... | 36 |
| Tabela 4 – Parâmetros hematológicos de tilápia-do-nilo (média ± desvio padrão) após 60 dias com dietas suplementadas com: Ração com nível indicado de vitamina Premix (Vit _{ind}); Vit _{ind} + Imunomodulador (Vit _{ind+immune}); Ração com nível alto de vitamina (Vit _{high}); Vit _{high} + imunomodulador (Vit _{high+immune}). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indica diferença estatística quanto o nível de vitamina (A,B) e letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística na inclusão de imunomodulador (a,b) | 40 |

SUMÁRIO

| | | |
|------------------|---|-----------|
| 1.1 | AQUICULTURA | 12 |
| 1.2 | TILAPICULTURA | 13 |
| 1.3 | NUTRIÇÃO DE PEIXES..... | 15 |
| 1.3.1 | Vitaminas..... | 16 |
| 1.3.1.1 | <i>Vitamina C</i> | 16 |
| 1.3.1.2 | <i>Vitamina E</i> | 18 |
| 1.3.2 | Minerais | 20 |
| 1.3.3 | Pré-mistura de vitaminas e minerais (Premix)..... | 20 |
| 1.4 | IMUNOMODULADORES..... | 22 |
| 1.4.1 β - | Glucano | 24 |
| 1.4.2 | Nucleotídeos | 26 |
| 1.5 | SINERGIA | 27 |
| 1.6 | OBJETIVOS..... | 29 |
| 1.6.1 | Objetivo Geral..... | 29 |
| 1.6.2 | Objetivos específicos | 29 |
| 2 | ARTIGO CIENTÍFICO | 30 |
| 2.1 | INTRODUÇÃO | 32 |
| 2.2 | METODOLOGIA..... | 34 |
| 2.2.1 | Material biológico..... | 34 |
| 2.2.2 | Dietas experimentais | 35 |
| 2.2.3 | Delineamento experimental..... | 36 |
| 2.2.4 | Análises hematológicas | 37 |
| 2.2.5 | Análises imunológicas..... | 38 |
| 2.2.6 | Análises estatísticas | 39 |
| 2.3 | RESULTADOS | 39 |
| 2.3.1 | Análises hematológicas..... | 39 |
| 2.3.2 | Análises imunológicas..... | 40 |
| 2.4 | DISCUSSÃO..... | 42 |
| 2.5 | CONCLUSÕES | 47 |
| 2.6 | AGRADECIMENTOS | 47 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 47 |
| 3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 56 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL | 57 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 AQUICULTURA

O crescimento populacional tem constantemente instigado a humanidade a busca por fontes alternativas capazes de atender as demandas que surgem, sobretudo, a demanda alimentar. Nesse contexto, atividades como a caça e a pesca extrativista ou predatória são utilizadas há séculos, mas não conseguem abastecer e suprir esse crescimento populacional mesmo com a industrialização das mesmas nas últimas décadas (TIDWELL; ALLAN, 2001; MERINO et al., 2012; NORSE et al., 2012; LITTLE; NEWTON; BEVERIDGE, 2016; ARAUJO, 2018). Em meio a esse cenário, o cultivo de animais com destino à alimentação do homem, como a aquicultura é vislumbrado como grande alternativa à essa problemática (LITTLE; NEWTON; BEVERIDG, 2016).

Alguns autores descrevem a aquicultura como uma atividade de reprodução e crescimento de organismos aquáticos em ambiente controlado ou semicontrolado, além de ser uma atividade que permite adaptações tecnológicas e o desenvolvimento de novas tecnologias, podendo proporcionar a integração do meio ambiente, exploração aquícola e dos recursos pesqueiros (SIQUEIRA, 2017). É conhecida também como atividade competitiva de produção de alimentos saudáveis e sustentável, contribuindo com a geração de emprego e renda (SIQUEIRA, 2017; MULOKOZI et al., 2020).

De acordo com Prabu; Santhiya (2016), Prabu et al. (2017) e a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO, 2022), a produção da aquicultura vem aumentando nos últimos anos, sendo o setor com maior crescimento dentro da produção pecuária global, com crescimento percentual de 5,3% ao ano desde 2001 até 2018. De acordo com a FAO (2022), a produção aquícola em 2020 foi de 122,6 milhões de toneladas, o qual corresponde um montante de venda avaliado em US \$ 313 bilhões. Desse total produzido, a maior parte é de peixes: 54,3 milhões de toneladas, sendo 47 milhões de toneladas de produção da aquicultura em águas doce e 7,3 milhões de toneladas da aquicultura marinha e costeira.

No cenário nacional, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020), a produção da aquicultura brasileira chegou a quase R\$ 6 bilhões nesse mesmo ano. No ano seguinte, em 2021, segundo a Associação Brasileira da Piscicultura (PeixeBr, 2022), a produção foi de 841.005 t, tendo a região Sul e Nordeste como principais polos de produção com 32% (269.300 t) e 19,3% (162.250 t) da produção total, respectivamente, com destaque para os estados do Paraná com 22,35%, ou seja, 188.000 t da produção aquícola brasileira e São Paulo com 9,71%, totalizando produção de 81.640 t. A PeixeBr (2022), dispõe

sobre o crescimento aquícola mesmo em um ano ainda marcado pela pandemia da Sars-CoV-2 e indica crescimento de 4,7% da piscicultura e também da sua exportação, 49% em volume (9.932 t) e 78% em faturamento (US \$ 20,7 milhões), comparados ao ano de 2020.

Grande parte da produção aquícola global e também brasileira vem de espécies herbívoras e onívoras como por exemplo, a tilápia. A tilápia, assim como a carpa foram introduzidas amplamente nos trópicos e por possuírem características que as tornam mais adaptáveis e resistentes, viabilizando o cultivo (EL-SAYED; KAWANNA, 2008). A espécie de maior relevância de cultivo no Brasil, é sem dúvida a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*).

1.2 TILAPICULTURA

O cultivo de tilápia é crescente tanto no âmbito global quanto nacional. Atualmente é a segunda espécie de peixe mais cultivada no mundo (PRABU et al., 2019) e a mais produzida no Brasil. Os números de produção de tilápia tanto no cenário global quanto no brasileiro mostram o quanto esse animal é valioso, tanto para a economia quanto para segurança alimentar global (GOBI et al., 2018; ALBUQUERQUE; HERRIG; CAVICHIOLO, 2019; ZAKI et al., 2020). A introdução da tilápia no território brasileiro aconteceu na década de 50 com a espécie tilápia rendali (*Coptodon rendalli*), com o objetivo de povoar os reservatórios hidrelétricos e estimular o cultivo. Esses animais originalmente vieram do continente africano, especificamente do Congo Belga, atualmente conhecido como República do Congo (GURGEL, 1998; BARROSO et al., 2016).

No Brasil, a tilapicultura é a mais consolidada das criações de espécies de peixe, com grande popularização e desenvolvimento em todas as regiões (SUSSEL, 2013; FILHO et al., 2020). Atualmente, o cultivo de tilápia é realizado principalmente em sistemas intensivo e superintensivo, ou seja, ampliando-se elevadas densidades de estocagem (BRITO et al., 2017). Quatro espécies de tilápia são cultivadas no Brasil: tilápia azul (*Oreochromis aureus*), tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*), tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*) e tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) (SCHULTER; VIEIRA-FILHO, 2017), sendo esta última a principal espécie.

A tilápia-do-nilo é amplamente difundida na aquicultura continental brasileira, foi importada em 1971 do continente africano e possui características que são atrativas para o cultivo tais como: rusticidade, hábito alimentar onívoro, carne de bom rendimento e com boa qualidade organoléptica, resistência a variáveis ambientais (temperatura, oxigênio dissolvido, pH, salinidade), qualidade zootécnica, alta taxa de fecundidade, período de engorda relativamente curto, manejo mais simplificado e com boa aceitação pelos consumidores (EL-

SAYED, 2006; FURUYA, 2010; PEREIRA; SILVA, 2012); BARROSO et al., 2015; BARROSO et al., 2016).

É notório o grande potencial que esse peixe possui para a produção brasileira, pois segundo PeixeBr (2022), em 2021 a produção de tilápia cresceu 9,8%, com produção de 534.005 t, representando 63,5% da produção total brasileira. Esse percentual foi maior que os de 2020 (60,6%), 2019 (57%) e 2018 (54,1%), tornando o Brasil, 4º maior produtor de tilápia a nível global. Em termos de vendas externas, a tilápia representa 88% com uma receita avaliada em US\$ 18,2 milhões. Em termos regionais, a região sul é a maior produtora, com 43,4% da produção de tilápia, totalizando 231.900 t. E de acordo com PeixeBr (2022), os estados pioneiros na produção de tilápia são: Paraná (182.000 t), São Paulo (76.140 t), Minas Gerais (47.000 t) e Santa Catarina (41.700 t).

Apesar da grande importância da tilapicultura, alguns problemas assolam este cultivo: enfermidades, sejam parasitárias, fúngicas ou bacterianas. Dentre as parasitárias, cita-se: *Ichthyophthirius multifiliis*, *Trichodina* sp., *Ambiphyra* sp., *Apiosoma* sp., monogenoidea e digenea (ZANOLO; YAMAMURA, 2006; SILVA et al., 2021). Já com relação às bacterianas, destaca-se: *Edwardsiella tarda*, *Francisella noatuanensis orientalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus iniae*, *Aeromonas* sp., entre outras. Além disso, os cultivos também sofrem com manejo inadequado e com as temperaturas baixas, principalmente no inverno nas regiões subtropicais (ZERAI; FITZSIMMONS; COLLIER, 2010; NOBREGA et al., 2020). Normalmente, nesses locais, entre o fim do outono e o início da primavera as águas de cultivo registram queda na temperatura, entre 11 °C e 13 °C, valores próximos da letalidade para espécies como a tilápia, já que a mesma possui conforto térmico entre 26 °C e 30 °C (ALTUN; TEKELIOĞLU; DANABAŞ, 2006; KUBITZA, 2006; ZADINELO et al., 2020).

Os problemas acarretados no inverno também têm influência da estação mais quente, pois nessa estação existe problemas com os níveis de água (estão mais baixos devido à baixa precipitação pluviométrica) e o alto fornecimento de ração, que provoca maiores níveis de nutrientes, em especial os nitrogenados que em determinados níveis são tóxicos, além da diminuição do oxigênio dissolvido, ou seja, queda na qualidade de água (COMAS, 2017). Esses problemas associados com a queda e oscilação de temperatura no inverno, grande densidade de estocagem e a fatores neuroendócrinos, afetam negativamente o sistema imunológico dos peixes, deixando os peixes mais suscetíveis às doenças, menos tolerantes ao manejo e acarretando na morte desses animais. Isso é preocupante, pois com a chegada da primavera ocorre a intensificação do manejo, seja para a reprodução ou para retomar a comercialização (KUBITZA, 2006; FALCON et al., 2007; ZADINELO et al., 2020).

Decorrente a essa problemática, muitos estudos vêm sendo realizados à procura de alternativas que consigam remediar ou minimizar essa situação estressante pela qual os peixes são expostos, por exemplo, usando uma ração enriquecida com nutrientes contendo vitaminas, principalmente, C, A, D e E, minerais, além de imunomoduladores, prebióticos e probióticos (COMAS, 2017), a fim de promover melhor desempenho no crescimento e também proporcionar o fortalecimento da imunidade dos peixes (LU et al., 2019).

1.3 NUTRIÇÃO DE PEIXES

Os peixes assim como os outros organismos possuem exigências nutricionais que garantam sua sobrevivência, no entanto, essa exigência pode variar para cada espécie. Os peixes necessitam de fatores energéticos para que consigam manter as atividades metabólicas básicas e para apoiar o crescimento e a reprodução (LOCHMANN et al., 2009; SANTOS et al., 2013). Nutrientes que exercem a função energética ao metabolismo dos peixes são os macronutrientes: proteínas, carboidratos e lipídios (SANTOS et al., 2013; HIXSON, 2014).

O conhecimento da nutrição de peixes é importante para uma alimentação equilibrada que forneça os nutrientes necessários a uma determinada espécie de peixe, que resulta em uma boa produção econômica e um produto saudável de qualidade (LIMA; SILVEIRA; TUESTA, 2015; CRAIG; HELFRICH, 2017). O crescimento e desenvolvimento dos peixes também pode ser influenciado pela biodisponibilidade de nutrientes e pela concentração de vitaminas e minerais (FERNANDES-JUNIOR et al., 2010; SALARO et al., 2013).

No entanto, com os avanços e a produção intensiva e superintensiva de espécies como a tilápia-do-nilo, a alimentação natural é restrita (MARTINS et al., 2016), fazendo-se necessária fonte nutricional externa que forneça nutrientes como proteína, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais (CRAIG; HELFRICH, 2017). Além disso, quanto mais intensivo é o sistema de produção, maior é a exigência por micronutrientes como as vitaminas e minerais. Em vista disso, a formulação e balanceamento nutricional é primordial para a espécie de cultivo, a exemplo a tilápia-do-nilo (ANDRADE et al., 2015).

Ainda que conhecida as exigências nutricionais da tilápia (Tabela 1), é importante ressaltar que existem fatores que podem alterá-las, como a linhagem, sexo, fatores ambientais, sanidade e ingredientes presentes na ração fornecida (FURUYA, 2010; FURUYA et al., 2012). A tilápia-do-nilo, segundo Cyrino et al. (2010); Furuya (2010); *Nutrient Requirements of Fish* – NRC (2011); Andrade et al. (2015); Cruz; Rufino (2017), necessita de todos os aminoácidos essenciais, macrominerais e microminerais, energia, proteína, fibra e ácidos graxos. Além desses nutrientes, os peixes necessitam de vitaminas, pois as mesmas participam amplamente

do metabolismo, seja como catalisadores ou reguladores metabólicos e possuem variação na sua biodisponibilidade em função da sua origem e absorção pelos peixes (RIBEIRO et al., 2012).

1.3.1 Vitaminas

As vitaminas são componentes orgânicos essenciais para a vida. De forma geral, são necessárias em pequenas quantidades (micronutrientes), a fim de garantir melhor funcionalidade do organismo participando de processos metabólicos, potencializar o crescimento, melhorar a reprodução e garantir excelente quadro de saúde (LOVELL, 1998; HALVER, 2002; GOUDA et al., 2020; EL-SAYED; IZQUIERDO, 2022).

Segundo Navarro (2008), esses compostos podem ser classificados como lipossolúvel (quando há afinidade com lipídeos), a exemplo das vitaminas A, D, E e K, e como hidrossolúveis (afinidade com a água), como as vitaminas do complexo B e vitamina C. Vitaminas hidrossolúveis possuem diferentes funções, umas atuam como coenzimas no metabolismo celular e são exigidas em menor quantidade, outras atuam como cofatores de enzimas e são exigidas em maior quantidade, como a vitamina C (NEU et al., 2010). No geral, as vitaminas estão envolvidas na formação do tecido ósseo, sanguíneo, muscular, nos processos metabólicos e fisiológicos, crescimento, saúde e a reprodução (MCDOWELL, 2003).

A deficiência ou a carência em vitaminas pode provocar deformidade larval (MAZURASIS et al., 2009), deformidade esquelética como escoliose, redução do crescimento, redução da ingestão de alimento (anorexia), anemia e alteração na coloração, normalmente coloração mais escura (HAGA; TAKEUCHI; SEIKAI, 2004; HANSEN; WAAGBØ; HEMRE, 2015; CRAIG; HELFRICH, 2017), apatia, natação errática, exoftalmia, acúmulo de fluido seroso na cavidade visceral, redução do número de eritrócitos e mortalidade (NRC, 2011; GUIMARÃES et al., 2014).

A importância de vitaminas na dieta dos peixes se dá principalmente porque algumas delas não são sintetizadas pelo organismo, a exemplo dessas vitaminas estão as vitaminas C e E (MAZURASIS et al., 2009). Diante disso, se faz necessário o fornecimento exógeno desses compostos no cultivo de peixes.

1.3.1.1 Vitamina C

O ácido ascórbico (vitamina C - VTC) é uma vitamina hidrossolúvel extremamente importante para os peixes, principalmente por atuar em funções como crescimento, formação do colágeno (principal constituinte do esqueleto), por suas propriedades antioxidantes,

formação de ossos, dentes e cicatrização de ferimentos (ROTTA, 2003; NAVARRO, 2008). Nos peixes, a absorção de VTC ocorre na membrana apical do enterócito, realizada por transportadores específicos que dependem de sódio (Na^+), promovendo absorção de Na^+ pela célula (NAVARRO, 2008). No entanto, assim como outros organismos, a maioria dos peixes teleósteos não sintetizam VTC por não apresentarem a enzima L-gulonolactona oxidase, que catalisa a última reação na síntese de ácido ascórbico (BORBA; FRACALOSSO; FREITAS, 2007; NAVARRO, 2008; NRC, 2011).

Ácido ascórbico (AA) é a principal fonte de VTC para os organismos, no entanto, na maior parte das dietas práticas esse ácido é instável e parte de sua atividade pode ser perdida durante o processamento da ração, assim como, durante o armazenamento da mesma (SHIAU; LIN, 2006). Nos estudos de Shiau; Lin (2006) com tilápias, quando comparam dietas contendo quatro tipos diferentes de AA, foi possível observar a necessidade de 79 mg de L-ácido ascórbico kg^{-1} para a estabilidade da VTC, enquanto que para o L-ascorbil-2-sulfato (C2S) a concentração variou de 20-23 AA kg^{-1} ; para o L-ascorbil-2-monofosfato-Mg (C2MP-Mg) foi entre 17-20 AA kg^{-1} e para o L-ascorbil-2-monofosfato-Na (C2MO-Na) é de 16 AA kg^{-1} . Devido a essa natureza, o uso de AA em formas mais estáveis é necessário, já que a deficiência em VTC nos peixes os tornam mais fracos e como consequência ocasiona a mortalidade dos animais.

A deficiência em VTC no organismo dos peixes promove grandes desequilíbrios, pois prejudica a síntese de colágeno e conseqüentemente provoca deformidades estruturais como escoliose, lordose, anormalidade na cartilagem (FALCON et al., 2007), crescimento reduzido, hemorragia interna e nas nadadeiras, filamentos branquiais distorcidos, anorexia, reduz o número de óvulos, reduz a eclodibilidade dos ovos e aumenta a mortalidade (NAVARRO et al., 2009; TRICHET et al., 2015).

A exigência de VTC nos peixes possui alguns fatores, como por exemplo, o estágio de crescimento do animal e também a situação na qual ele se encontra, como estresse térmico, pois a VTC reduz cortisol e modula níveis de expressão de proteínas de choque térmico (HSP70) (KHASSAF et al., 2003; NRC, 2011; JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ et al., 2012) e ataques de patógenos. Dessa forma, a VTC também pode exercer a função de imunomodulador na dieta de animais aquáticos como peixes e camarões (SAHA et al., 2010; DAWOOD; KOSHIO, 2018; RADI et al., 2020; SÁ, 2020).

Os efeitos imunomoduladores de VTC induz a resposta imune, incluindo infiltração de macrófagos, proliferação celular, peroxidação lipídica, atividade do sistema complemento, aumento dos níveis de lisozima, da atividade dos leucócitos e desenvolvimento de citocinas,

melhora a sobrevivência e o combate a enfermidades de uma variedade de espécies de peixes (NAYAK; SWAIN; MUKHERJEE, 2007; MING et al., 2012; GAO et al., 2013). Mesmo propiciando esses efeitos, o papel antioxidante da VTC é o de maior destaque, pois é capaz de eliminar espécies reativas de oxigênio (*Oxygen-reactive species* - ROS) (BAE et al., 2011).

As ROS são fatores microbicidas potentes e podem ser produzidas pela atividade fagocítica das células do sistema imune (DAWOOD; KOSHIO; ESTEBAN, 2018). A VTC atua contra as ROS intracelular e extracelular mediando o estresse oxidativo dos tecidos e células. Os fagócitos, por exemplo, são atuantes na resposta imune inata e possuem alta concentração de VTC no seu citoplasma, que representa forte proteção contra uma enorme produção de ROS no combate aos patógenos (SÁ, 2020). Logo, a suplementação em VTC em níveis elevados é recomendada quando o sistema imune é desafiado, seja por estresse como manipulação, classificação, surtos de doenças e baixa ingestão desse componente durante o inverno (TRICHET et al., 2015).

Em função do potencial modulador da VTC, os estudos de Martins et al. (2008); Liang et al. (2017); Dawwod; Koshio (2018) e Dawoo et al. (2020), demonstraram que o acréscimo de VTC na dieta melhorou a resistência ao estresse, melhorou a histomorfometria do intestino, e a resistência contra infecções, respectivamente.

A VTC ainda pode colaborar com outros antioxidantes como o tocoferol (vitamina E) e atuar de forma sinérgica, pois a VTC restaura a vitamina E, em proteção sinérgica de membranas, quando ambas estão presentes (SHIAU; HSU, 2002; TORRES et al., 2002; (VÉLEZ-ALAVEZ et al., 2014), causando um efeito poupador de vitamina E. Nos estudos de Liu et al. (2019), a dieta para acará-disco (*Symphysodon haraldi*), contendo VTC e vitamina E alcançaram maiores taxas de crescimento específico, comprimento e capacidade antioxidante. Já trutas (*Trutta caspius*) alimentadas com dieta rica em VTC e vitamina E apresentaram melhor taxa de crescimento, ganho de peso, biomassa, parâmetros hematimétricos e parâmetros imunológicos como a lisozima e imunoglobulina (KHARA; SAYYADBORANI; SAYYADBORANI, 2016).

1.3.1.2 Vitamina E

O α -tocoferol (vitamina E - VTE) é uma vitamina lipossolúvel de extrema importância para os animais, sobretudo para os aquáticos como peixes, pois são incapazes de sintetizá-la, explanando a necessidade de sua adição na dieta. Esse nutriente é composto por grupos fenólicos biologicamente ativos que são naturalmente encontrados em 8 formas, sendo 4 do tipo tocoferóis e 4 tocotrienóis (MEHRAD; SUDAGAR, 2010; FAROOQI; QURESHI, 2018).

Apesar da abundância de formas, a que apresenta maior atividade de VTE é α -tocoferol, um produto biológico antioxidante (MEHRAD; SUDAGAR, 2010; NRC, 2011).

A relevância da VTE para os peixes pode ser devido ao seu mecanismo de ação. Sabe-se que a referida vitamina tem por principal função a ação antioxidante metabólica, pela qual protege as membranas celulares, lipoproteínas e lipídios contra a oxidação (SAU et al., 2004; SADO; GIMBO; SALLES, 2016), bem como protege os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) que estão presentes nas dietas contra peroxidação modulada por ataques de radicais livres (SHIAU; HSU, 2002; HUANG; HUANG, 2004). Esses ácidos graxos são essenciais para o desenvolvimento normal dos peixes, pois são incorporados nas células e ajudam a manter a fluidez da membrana (PALACE; WERNER, 2006).

Além dessa função bastante difundida, a VTE possui outras atribuições como redução na mortalidade, melhora do crescimento, desempenho dos peixes, resistência ao estresse, resistência as doenças, manutenção da qualidade da carne (filés), promove a permeabilidade dos capilares e músculos cardíacos (HALVER, 2002; HALVER; HARDY, 2002; VISMARA et al., 2003; PENG et al., 2009; PAN et al., 2017). Em contrapartida, a ausência ou baixa concentração de VTE pode gerar danos para o animal como crescimento lento, fígado em regeneração e afeta o desempenho reprodutivo (gônadas imaturas, menor taxa de eclosão e menor sobrevivência da prole) (IZQUIERDO; FERNANDEZ-PALACIOS; TACON, 2001) De acordo com os estudos de Sau et al. (2004), concentração inferior a 100g de VTE kg⁻¹ provocou redução no ganho de peso e na eficiência alimentar em carpa indiana (*Labeo rohita*).

Outro papel que a VTE desempenha é a modulação da resposta imunológica não específica dos peixes (SAKAI, 1999; HALVER; HARDY, 2002; TRICHET, 2010), pois protegem as membranas dos macrófagos de danos peroxidativos (FILHO, 2007); induz o aumento da produção de leucócitos e da atividade fagocitária (CHEN et al., 2004), estimula os linfócitos B e T e quando administrada em dose adequada, podendo aumentar a geração de anticorpos e atividade do sistema complemento, promove a proliferação de linfócitos, citocinas e melhora a fagocitose (FAROOQI; QURESHI, 2018). Segundo Priyadarsani et al. (2021), a suplementação de VTE com 100 mg kg⁻¹ de ração pode preparar o sistema imune não específico de carpa contra *A. hydrophila* e melhorar a saúde em geral. Para Galaz; Kim; Lee (2010), VTE fornecida na dieta aumentou a resposta imune não específica e melhorou a resistência do peixe papagaio (*Sparisoma abilgardi*).

Além das vitaminas, os minerais são de grande importância para os peixes e também estão envolvidos nos processos metabólicos, esquelético, podendo refletir na maior ou na menor

produtividade do animal (McDOWELL, 2003). Os minerais também podem interagir entre si e também com outros nutrientes (MORAES; LOUREIRO; PADINHA, 2009).

1.3.2 Minerais

Os minerais são classificados de acordo com a quantidade exigida pelo peixe (LIM; WEBSTER, 2001), são elementos inorgânicos vitais para diversos processos como o crescimento e manutenção da saúde dos peixes (LALL; KAUSHIK, 2021). Quando exigido em maior quantidade são classificados como macrominerais (quantidade em g) e em menor quantidade como microminerais (quantidade em mg e μg). Compõe o grupo dos macrominerais: fósforo, enxofre, cálcio, magnésio, sódio, potássio, cálcio e cloro; enquanto os microminerais são compostos por cobalto, cromo, cobre, iodo, manganês, selênio e zinco (GATLIN, 2010; NRC, 2011). Os macrominerais estão envolvidos na estrutura de tecidos, na osmorregulação, em rotas metabólicas e do balanço ácido-base (JOBLING, 2001; GONÇALVES et al., 2005). Enquanto os microminerais são componentes de hormônios, cofatores enzimáticos, ativadores de enzima e participam de processos bioquímicos (NRC, 2011).

Os peixes realizam absorção de íons presentes na água através das brânquias, suprimindo a necessidade de muitos minerais. No entanto, segundo Kleemann (2002) e Furuya (2010), assim como a deficiência em vitaminas, a falta de minerais pode ser prejudicial para os animais. A exemplo disso o fósforo (P), mineral de baixa concentração na água, porém essencial para o crescimento, reprodução e mineralização óssea e a carência deste micromineral resulta em redução do peso e piora da conversão alimentar (KLEEMANN, 2002). O zinco (Zn) é um mineral importante, pois é um componente para o sistema enzimático e sua deficiência altera os parâmetros hematológicos assim como a deficiência em ferro (Fe) altera parâmetros como hemoglobina, Volume Corpuscular Médio (VCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), ou seja, a carência desse mineral está associada a doenças como anemia (KLEEMAN, 2002). A fim de evitar doenças e perdas decorrentes de uma dieta carente de vitaminas e minerais, tem-se acrescentado nas rações uma pré-mistura de vitaminas e minerais.

1.3.3 Pré-mistura de vitaminas e minerais (Premix)

Para combater possíveis problemas por deficiência nutricional dos peixes de cultivo, normalmente é empregado o fornecimento de ração comercial que já é enriquecida de minerais e vitaminas através da pré-mistura de vitaminas e minerais (Premix) (FURUYA, 2010). Esse

produto é minuciosamente balanceado e destinado para cada espécie e fase de vida independente dos níveis nutricionais dos ingredientes (GATLIN, 2010).

A formulação de Premix balanceado é fruto de pesquisas e dos avanços que a aquicultura vem sofrendo nas últimas décadas (ANDRADE et al., 2015; CRUZ; RUFINO, 2017). A incorporação desses produtos na ração é essencial para a saúde e qualidade de vida desses animais, já que sem o mesmo, poderia haver problemas em decorrência da deficiência nutricional, seja ela de minerais ou vitaminas, que pode acarretar na perda da qualidade do produto, na mortalidade dos animais no cultivo e conseqüentemente prejuízo econômico para o produtor.

Com relação aos Premix que são adicionados na formulação da ração, é importante averiguar quais são os nutrientes presentes no mesmo e suas respectivas concentrações, pois de acordo com Kubitzka; Cyrino; Ono (1998); Anderson; Sunderland (2002); Athar et al. (2006); Craig; Helfrich (2017), na formulação da ração e posteriormente na fabricação, mais precisamente no processo de adição de calor, seja por extrusão (ração flutuante) ou pela adição de pressão como na peletização (ração mais densa, capaz de afundar), alguns nutrientes são perdidos, acontecendo perdas também durante o armazenamento da ração (BARROWS et al., 2008; CYRINO et al., 2010). Outro fator importante é seguir as normas do fabricante relacionada a quantidade de Premix que deve ser adicionado por tonelada kg^{-1} de ração. Uma observação que deve ser feita é que são variados os Premix disponíveis no mercado atualmente e cada um possui diferentes nutrientes e diferentes concentrações (Tabela 2).

Tabela 1 - Exigências nutricionais para juvenis de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*).

| Nutriente | Exigência | Nutriente | Exigência |
|---|-----------|--|-------------|
| ¹ Energia Bruta (kcal/kg) | 4081 | ⁴ Potássio (%) | 0,20 - 0,30 |
| ² Energia Digestível (kcal/kg) | 3200 | ⁴ Sódio (%) | 0,15 |
| ³ Proteína Bruta (%) | 40 | ² Cobre (mg/kg) | 4 |
| ⁴ Proteína Digestível (%) | 32 | ¹⁰ Iodo (mg/kg) | 0,6 |
| ⁵ Arginina (%) | 1,34 | ⁴ Ferro (mg/kg) | 8,5 |
| ⁵ Histidina (%) | 0,55 | ⁴ Manganês (mg/kg) | 7 |
| ⁴ Isoleucina (%) | 1 | ⁴ Zinco (mg/kg) | 20 |
| ⁴ Leucina (%) | 1,9 | ¹¹ Selênio (mg/kg) | 0,25 |
| ² Lisina (%) | 1,53 | ⁴ Vitamina A (UI/kg) | 5999,99 |
| ⁴ Metionina+Cistina (%) | 1 | ⁴ Vitamina D (UI/kg) | 360 |
| ⁵ Fenilalanina+Tirosina (%) | 1,77 | ⁴ Vitamina E (UI/kg) | 2400000 |
| ⁴ Teonina (%) | 1,2 | ⁸ Vitamina K (mg/kg) | 4,4 |
| ⁵ Triptofano (%) | 0,09 | ⁴ Riboflavina (mg/kg) | 6 |
| ⁴ Valina (%) | 1,5 | ⁴ Ácido pantotênico (mg/kg) | 10 |
| ⁶ Extrato etéreo (%) | 7,81 | ⁴ Niacina (mg/kg) | 26 |

Tabela 1 (conclusão)

| | | | |
|-------------------------------------|-----------|---|------|
| ⁷ Ácido graxo n-3 (%) | 1,2 | ⁴ Vitamina B ₁₂ (mg/kg) | NE* |
| ⁴ Ácido graxo n-6 (%) | 0,5 - 1,0 | ⁴ Colina (mg/kg) | 1000 |
| ⁸ Fibra Bruta (%) | 8 - 10 | ⁴ Biotina (mg/kg) | 0,06 |
| ⁴ Cálcio (%) | 0,7 | ² Ácido fólico (mg/kg) | 1 |
| ⁴ Cloro (%) | 0,15 | ¹² Tiamina (mg/kg) | 4 |
| ⁴ Magnésio (%) | 0,06 | ⁴ Vitamina B ₆ (mg/kg) | 15 |
| ⁹ Fósforo total (%) | 0,95 | ⁴ Vitamina C (mg/kg) | 20 |
| ⁴ Fósforo disponível (%) | 0,4 | ¹³ Inositol (mg/kg) | 400 |

Fonte: Elaborado pelo Autor

¹Silva et al. (2006). ²Furuya (2010). ³Siddiqui et al. (1998). ⁴NRC (2011). ⁵Santiago; Lovell (1998). ⁶Cruz; Rufino (2017). ⁷Souza et al. (2005). ⁸El-Sayed (2006). ⁹Pinto (2008). ¹⁰Kubitza (1999). ¹¹Sanchez et al. (2017). ¹²Lim et al. (2011). ¹³Shiau; Su (2005). *Não exigido.

Tabela 2 - Comparação de nutrientes e suas respectivas concentrações de três diferentes Premix (A, B, C) que estão disponíveis no mercado.

| Premix A | | Premix B | | Premix C | |
|------------------------|----------|---------------------------|----------|----------------------------|----------|
| Ingrediente | Nível/Kg | Ingrediente | Nível/Kg | Ingrediente | Nível/Kg |
| Ácido Fólico (mg) | 1200 | Ácido Fólico (mg) | 420 | Biotina (mg) | 150 |
| Ácido Pantotênico (mg) | 10000 | Ácido Pantotênico (mg) | 8333 | Colina (mg) | 5000 |
| BHT (mg) | 5000 | BHT (mg) | 25000 | Inositol (mg) | 5000 |
| Biotina (mg) | 200 | Biotina (mg) | 144 | Iodato de potássio (mg) | 240 |
| Inositol (mg) | 250000 | Inositol (mg) | 50000 | L-Lisina (mg) | 3000 |
| Iodo (mg) | 1600 | Iodato de cálcio (mg) | 92 | Metionina (mg) | 2000 |
| Niacina (mg) | 20000 | Niacina (mg) | 8333 | Niacina (mg) | 10000 |
| Selênio (mg) | 100 | Propionato de cálcio (mg) | 250000 | Pantotenato de cálcio (mg) | 2000 |
| Cobalto (mg) | 80 | Selenito (mg) | 100 | Selenato de sódio (mg) | 20 |
| Cobre (mg) | 3500 | Sulfato de Cobalto (mg) | 27 | Sulfato de Cobalto (mg) | 80 |
| Ferro (mg) | 20000 | Sulfato de Cobre (mg) | 1833 | Sulfato de Cobre (mg) | 2400 |
| Manganês (mg) | 10000 | Sulfato de Ferro (mg) | 8000 | Sulfato de Ferro (mg) | 28000 |
| Zinco (mg) | 24 | Sulfato de Manganês (mg) | 3500 | Sulfato de Magnésio (mg) | 2400 |
| Colina (mg) | 100000 | Sulfato de Zinco (mg) | 23330 | Sulfato de Manganês (mg) | 6800 |
| Vitamina A (UI) | 2400000 | Vitamina A (UI) | 1666670 | Sulfato de Zinco (mg) | 24000 |
| Vitamina B1 (mg) | 4000 | Vitamina B1 (mg) | 2083 | Vitamina A (UI) | 2000000 |
| Vitamina B12 (µg) | 8000 | Vitamina B12 (µg) | 5000 | Vitamina B1 (mg) | 800 |
| Vitamina B2 (mg) | 4000 | Vitamina B2 (mg) | 4166 | Vitamina B12 (µg) | 40000 |
| Vitamina B6 (mg) | 3500 | Vitamina B6 (mg) | 3166 | Vitamina B2 (mg) | 1000 |
| Vitamina C (mg) | 600 | Vitamina C (mg) | 66,67 | Vitamina B6 (mg) | 2400 |
| Vitamina D3 (UI) | 600000 | Vitamina D3 (UI) | 666670 | Vitamina C (mg) | 20 |
| Vitamina E (UI) | 30000 | Vitamina E (UI) | 16666 | Vitamina D3 (UI) | 400000 |
| Vitamina K3 (mg) | 3.000 | Vitamina K3 (mg) | 833 | Vitamina E (UI) | 20000 |

Fonte: Elaborado pelo autor

1.4 IMUNOMODULADORES

Há décadas que as mais variadas doenças e seus vetores assolam os cultivos de peixes e aliado a isso, há também o estresse ocasionado pelo manejo e sazonalidade. Esses fatores muitas vezes resultam em mortalidade no cultivo e perdas econômicas. Na tentativa de prevenir e mitigar essas perdas, têm-se utilizado antibióticos e quimioterápicos como medidas

profiláticas e também como tratamento de doenças (DING; HE, 2010; WANG et al., 2019; RASHIDIAN et al., 2020). No entanto, o uso indiscriminado desses produtos tem levantado questões como acumulação de substâncias nos tecidos dos peixes. Além disso, o uso recorrente de antibióticos nos tratamentos de doenças tem gerado bactérias resistentes, ou “superbactérias”, que não respondem mais aos tratamentos (AKANMU, 2018; KRAEMER; RAMACHANDRAN; PERRON, 2019).

Com o aumento dos problemas relacionados aos cultivos já mencionados anteriormente, a inserção de imunomoduladores na dieta dos peixes é uma estratégia importante e um método eficaz a ser utilizado na aquicultura, com objetivo de aumentar a resistência natural e também reduzir os efeitos imunossupressores causados por patógenos e pelo estresse nos peixes, já que o mesmo modula o sistema imunológico e aumenta a resistência dos hospedeiros (BAGNI et al., 2005; ALY; MOHAMMED; JOHN, 2008; TORT, 2011; ABDELRAZEK et al., 2017; SÁ, 2020). Reiterando o exposto, Albright; Evelyn; Nikl, (1991), afirmam que imunomoduladores podem ser utilizados como tratamento profilático em situações conhecidas, como doenças sazonais. Além disso, Tzianabos (2000) e Bagni et al. (2005), defendem que imunomoduladores são compostos naturais e sintéticos capazes de neutralizar o estado imunossupressor dos peixes.

Autores como Sakai (1999) e Gopalakannan; Arul (2010), denominam imunomoduladores ou imunoestimulantes como uma substância com a finalidade de melhorar o sistema imunológico, para tanto, interagem com as células desse sistema de defesa ativando macrófagos e aumentando a fagocitose por neutrófilos e monócitos; elevam o número de linfócitos e níveis de imunoglobulina sérica e lisozima, ou seja, produção de mensageiros que estimulam o sistema imunológico. Em consideração que a resposta imunológica é um processo que abrange componentes celulares e humorais (neutrófilos, macrófagos, linfócitos, imunoglobulinas e citocinas), Tzianabos (2000) e Bagni et al. (2005), afirmam que imunomoduladores promovem a resposta imune não específica e a regulação positiva da resposta inflamatória.

Os imunomoduladores comumente são microrganismos não virulentos (GANNAM; SCHROCK, 1999), seus componentes e subprodutos incluem também ampla variedade de agentes químicos, polissacarídeos, mananoligossacarídeos, extrato animal e extrato vegetal (ABDELRAZEK et al., 2017). Alguns exemplos dessas substâncias que causam efeito imunomodulador nos peixes são os minerais, vitaminas, nucleotídeos e β -glucanos (XU et al., 2015; DAWOOD et al., 2020; SÁ, 2020). Esse último composto, segundo Smith et al. (2003), é de baixa toxicidade, fácil administração, como imersão ou injeção, podendo também ser

fornecido como suplemento dietético. Para Sakai (1999), este último método é o mais adequado para se aplicar à aquicultura.

1.4.1 β -Glucano

β -glucano é um polissacarídeo estrutural formado por bloco de glicose encontrado na parede celular de bactérias, fungos, leveduras, protozoários e plantas (WISMAR et al., 2010; SELIM; REDA, 2015; EL-MURR et al., 2019; SÁ, 2020). Sua estrutura compreende ao tipo de ligação β -(1,3) e β -(1,6) em ordem não repetitiva e também não aleatória, o qual possui cadeias laterais de comprimentos variados (CHAGAS et al., 2013; ARAMLI; KAMANGAR; NAZARI, 2015).

Esse tipo de ligação caracteriza uma estrutura em forma de hélice que é reconhecida pelo sistema imune e resulta na ativação do mesmo através do melhor desempenho das atividades fagocitárias (PAULSEN; ENGSTAD; ROBERTSEN, 2001). Mesmo de acordo com Goodridge; Wolf; Underhill (2009), que mencionam que todas as fontes de β -glucano possuam efeitos pró ou anti-inflamatório, a fonte comumente utilizada na aquicultura é a da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, por possuir propriedades antitumoral, imunomodulatória, antiviral, antibacteriana e antiparasitária (WASSER; WEIS, 1999; SELIM; REDA, 2015; SÁ, 2020).

β -glucanos são descritos por muitos autores como imunomoduladores por sua característica de estimular o mecanismo de defesa inato ou não específico (sistema imunológico), que induz o aumento da atividade fagocitária de macrófagos e dessa forma, aumenta a capacidade de combater patógenos (RINGØ et al., 2016; LU et al., 2019; PENNEY et al., 2019) e estresse, evitando o uso de antibióticos, quimioterápicos, bem como, os problemas relacionados a esses produtos (POHLENZ; GATLIN, 2014; WATTS et al., 2017; YAMAMOTO et al., 2018; DAWOOD; KOSHIO; ESTEBAN, 2018). Possuem influência na resposta imunológica, na produção de radicais oxidativos de neutrófilos no sangue, reforçam fatores inespecíficos como as proteínas líticas (lisozima) e atividade do sistema complementar (MISRA et al., 2006; GOPALAKANNAN; ARUL, 2010; PILARSKI et al., 2017), estimula também atividades biológicas como efeito antimicrobiano, antioxidante e anti-inflamatório (DAWOOD et al., 2020).

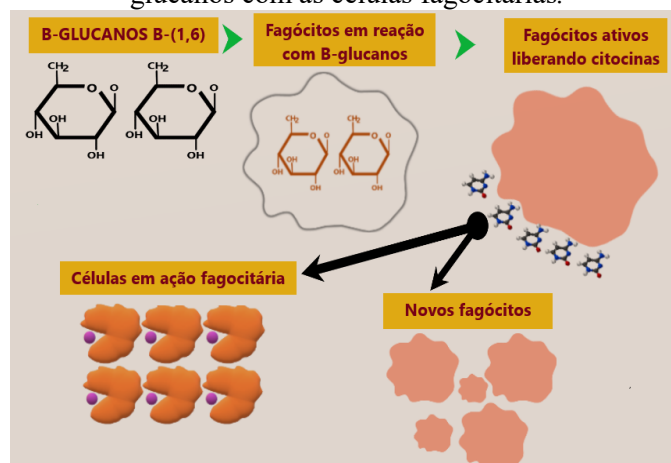
De acordo com Lu et al. (2019) e Miao et al. (2020), os β -glucanos possuem a capacidade de se ligar e serem reconhecidos por receptores de imunidade, como os receptores Toll-like (TLR), que são receptores de conhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (*pattern-recognition receptor*). Segundo Ferraz; Silveira; Santos (2011), os TLR estão localizados na superfície das células imunológicas e são capazes de reconhecerem padrões

microbianos, que induzem a resposta inata imediata, mediante ativação do sistema e a fagocitose. Nesse caso, o fagócito pode ainda apresentar ao sistema imune não adaptativo, um fragmento do patógeno já processado, com estimulação de uma resposta não patogênica.

No geral, β -glucanos se ligam e ativam as células fagocitárias e essas células produzem citocinas, as quais promovem uma reação em cadeia e aumentam a produção de células fagocitárias, que alertam o sistema imunológico para combater patógenos, estresse e desafio ambiental (Figura 1), tornando-se um agente profilático que aumenta a resistência do animal e minimiza possíveis efeitos externos negativos (BONATO, 2019; MIAO et al., 2020). Os β -glucanos também possuem característica de prebióticos, pois eles podem ser absorvidos pelas células intestinais no trato gastrointestinal, estimulam células de relação imune humoral e molecular, o que aumenta a resistência a doenças (NAVARRETE; TOVAR-RAMREZ, 2014; SONG et al., 2014). Por essas razões, esse aditivo tem grande potencial para a aquicultura e consequentemente tem sido alvo de pesquisas com interesses em suas atividades, principalmente a imunomoduladora (DAWOOD; KOSHIO; ESTEBAN, 2018).

Além das atribuições citadas, de acordo com Ji et al. (2017); Dawood; Koshio; Esteban (2018) e Amphan et al. (2019), o uso de dietas que são enriquecidas com β -glucano é considerada uma prática barata que pode ser adotada por pequenos e grandes piscicultores, aumentando o ganho de peso, comprimento e respostas imunológicas nos animais. Assim como β -glucanos, os nucleotídeos são importantes imunomoduladores e estão envolvidos em processos fisiológicos, bioquímicos que inclui a codificação genética, componente de coenzimas e modulação do metabolismo (LI; GATLIN, 2006), apresentando-se como um potencial suplemento alimentar de peixes.

Figura 1 - Esquema de atuação e interação dos β -glucanos com as células fagocitárias.



Fonte: Adaptado de Bonato (2019).

1.4.2 Nucleotídeos

Os nucleotídeos são compostos intracelulares com baixo peso molecular, possuem base nitrogenada, purina ou pirimidina, açúcar (ribose ou desoxirribose), uma pentose e um ou mais grupo fosfato (LEHNINGER et al., 2018; GIL, 2002). Segundo Li; Zhao; Gatlin (2015) e Bowyer et al. (2019), os nucleotídeos estão envolvidos em funções tanto bioquímicas quanto fisiológicas essenciais para o sustento da vida, como: inclusão de decodificação de informações genéticas; precursores de ácidos nucleicos como ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA), mediação do metabolismo energético (fonte de adenosina trifosfato - ATP e guanosina trifosfato - GTP); componentes estruturais de cofatores enzimáticos (como por exemplo, coenzimas nicotinamida-adenina-dinucleótido - NAD; flavina-adenina-dinucleotídeo - FAD e acetil-coenzima A - CoA); também participam da sinalização celular (mensageiros) e estão associados à capacidade de modular ácidos graxo poliinsaturado de cadeia longa (LC-PUFA).

Além das funções já atribuídas a esse nutriente, também postula-se que seja um possível imunomodulador, por ser capaz de modificar as respostas imunológicas (RINGO et al., 2011; YASEEN et al. 2020), e os nucleotídeos podem estar envolvidos em processos como assimilação de nutrientes essenciais à vitelogenese, desempenho reprodutivo (ARSHADI et al. 2018), ativação e proliferação de linfócitos, fagocitose em macrófagos, resposta de imunoglobulinas, microbiota intestinal, expressão genética de certas citocinas (GIL, 2002), aumento do crescimento, resposta imunológicas e resistência a doenças (SONG; LIM; LEE, 2012).

As fontes de nucleotídeos são diversas, de origem vegetal, animal e também são encontrados nas células de leveduras, em forma de nucleotídeos livres e ácidos nucleicos (GIL, 2002; FEGAN, 2006). Esses nutrientes são caracterizados como não essenciais ou condicionais para os peixes (MALDONADO et al., 2001). Isso se deve a capacidade desses animais de produzirem naturalmente esses compostos em alguns tecidos, principalmente no tecido hepático, no qual são sintetizados por meio da síntese *de novo*, terminologia denominada por Reda et al. (2018), a partir de aminoácidos como a glutamina, glicina, espartato e de energia.

No entanto, a via de síntese *de novo* é limitada em tecidos e órgãos que apresentam rápida divisão mitótica, como mucosa intestinal, eritrócitos, linfócitos, medula óssea e cérebro (ROSSI; XAVIER; RUTZ, 2007; REDA et al., 2018). Outro meio pelo qual os peixes produzem nucleotídeos é através da via *de salvamento*, na qual os nucleotídeos são produzidos através de base endógena de purina e pirimidina da quebra de DNA e RNA. Além disso, esses animais podem adquirir os nucleotídeos através da suplementação dietética exógena desse nutriente

(SCHALLER; BUCK; RUEDA, 2007), sendo essa via muito importante para o desenvolvimento desses tecidos de rápido crescimento celular.

Por essas razões, a suplementação dietética para peixes que forneça nucleotídeos se torna interessante e viável, principalmente, em tecidos com acelerado *turnover* celular, pois o nucleotídeo presente na dieta é direcionado para tecidos com deficiência da via *de novo* (CRUZ; RUFINO, 2017; REDA et al., 2018). Outros efeitos benéficos desse tipo de suplementação é a possível melhora larval, otimização da função celular de linfócitos e efeito poupador de energia (alta demanda na síntese de nucleotídeos) (LOW et al., 2003; RINGØ et al., 2012).

Para Burrells; Williams; Forno, (2001); Low et al. (2003); Li; Gatlin (2006) e Cruz; Rufino (2017), o fornecimento exógeno desse composto também está associado a maior absorção de nutrientes, uma vez que pode melhorar a morfologia intestinal; além de garantir maior disponibilidade de nucleotídeos em momento de alta demanda nas atividades fisiológicas (má qualidade de água, alta densidade e manejo), desempenhar papel importante na proliferação de leucócitos durante desafio de doenças e aumentar a tolerância ao efeito imunossupressor do estresse.

Apesar da fonte exógena deste composto ser importante, alguns estudos devem ser realizados a fim de preencher lacunas pendentes, principalmente, com relação ao seu efeito imunomodulador. Segundo Xu et al. (2015), um outro aspecto importante a ser considerado é a dosagem ideal de nucleotídeos nas dietas e isso vai depender de cada espécie. Em investigação realizada por Xu et al. (2015), esses indicaram doses ideais diferentes de nucleotídeos para o ganho de peso e crescimento (0,63%) e para a eficiência alimentar (0,81%) de híbridos de juvenis de *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*.

Além das ações mencionadas dos imunomoduladores, suas atividades podem ainda ser potencializadas através da simbiose ou mesmo sinergismos com outros aditivos como probióticos, prebióticos e também as vitaminas, como observado por Khalil; Elhady (2015).

1.5 SINERGIA

Com os avanços da ciência e das pesquisas voltadas para a nutrição na aquicultura, muito se tem falado na possível sinergia dos mais variados nutrientes que tem como consequência a potencialização das ações de determinados nutrientes e aditivos. Apesar de sinergia aparentar ser um termo novo, o mesmo tem sido utilizado há muitos anos, como descrito por Colby (1967).

De acordo com Abdulrahman; Ahmed (2016), o sinergismo ocorre quando os efeitos combinados dos aditivos ou produtos é significativamente maior que os efeitos de cada agente

administrado isoladamente. Porém, Branisteanu; Mathieu; Bouillon (1997), mencionam que o efeito sinérgico vai além de uma simples adição de efeito, entendendo como sinergia a promoção de efeitos a níveis mais altos de ambos os produtos avaliados. Kruse et al. (2001), menciona que o sinergismo permite o uso de doses menores dos produtos, existindo, portanto, uma ação de complementaridade. Os efeitos sinérgicos além de serem possivelmente observados (com base em dados coletados) também podem ser calculados, para tanto, existem alguns modelos como o de Flint; Cornelius; Barrett (1988), que segue o modelo estatístico proposto por Colby (1967) que utiliza o teste t, podendo ser classificado como sinergismo ($I_{ij} < 0$) e antagonismo ($I_{ij} > 0$), como segue:

$$I_{ij} = \mu_{ij} - \mu_{i0} - \mu_{0j} + \mu_{00} \quad (1)$$

Onde nesse modelo,

I_{ij} : efeito da interação dos fatores,

μ_{ij} : interação,

μ_{i0} e μ_{0j} : efeitos isolados,

μ_{00} : efeito nível zero de cada fator.

Muitos autores em investigações na dieta de peixes têm conseguido observar o sinergismo em diversos aditivos alimentares, como nos estudos de Khalil; Elhady (2015) com tilápia-do-nylo, no qual observaram aumento das respostas imunológicas e resistência contra *Aeromonas sobria* nos animais alimentados com vitamina C + *Echinacea purpurea*. Hoseinifar; Hosein; Bagheri (2017), observaram sinergismo de galactooligossacarídeo (1%) + *Pedococcus acidilactici* ($7,5 \log \text{ UFC g}^{-1}$) na atividade enzimática antioxidante e na resistência a *Streptococcus iniae* em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Yamamoto et al. (2020), destacaram elevação da atividade de lisozima (*in vitro*) e aumento da fosfatase ácida e *burst respiratory* (*in vivo*) utilizando β -glucano paramilo (100 mg kg^{-1}) + vitamina C (500 mg kg^{-1}) em robalo listrado híbrido (*Morone chrysops x M. saxatilis*).

Em resumo, os imunomoduladores citados são valiosos aditivos dietéticos para peixes, pois, de acordo com o exposto, esses aditivos possuem a capacidade de modular o sistema de defesa dos peixes, aumentando atividade das células fagocitárias. Aliado aos imunomoduladores estão as vitaminas que são de extrema importância para esses animais, podendo também estabelecer sinergismo com os imunomoduladores e potencializando suas ações.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos hematoimunológicos da suplementação dietética conjunta de β -glucanos-nucleotídeos e diferentes níveis de vitaminas para tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) após estresse físico e agudo.

1.6.2 Objetivos específicos

- Verificar se a suplementação conjunta de imunomodulador e diferentes níveis de vitaminas interferem na hematologia de juvenil de tilápia-do-nilo;
- Avaliar possíveis alterações nos parâmetros imunológicos de tilápia-do-nilo suplementadas dieteticamente com imunomodulador e diferentes níveis de vitaminas;
- Averiguar se a suplementação dietética com imunomodulador e diferentes níveis de vitaminas promove resistência de tilápia-do-nilo quando desafiadas com estresse físico e agudo.

1.7 ESTRUTURA DO ESTUDO

Esta dissertação é composta por um artigo científico, que será submetido ao periódico “Aquaculture International”. Com percentil de 70% em Agronomia e Ciências Agrárias, correspondendo a um qualis A3.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

RESPOSTAS HEMATOIMUNOLÓGICAS DE JUVENIL DE TILÁPIA-DO-NILO COM SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE IMUNOMODULADOR E DIFERENTES NÍVEIS DE VITAMINAS APÓS ESTRESSE FÍSICO E AGUDO

Domickson Silva Costa¹; Iracema Lima Pereira¹; Scheila Anelise Pereira Dutra¹; Lucas Cardoso¹; Paula Brando de Medeiros¹; Kennya Addam Gomes Silva¹; Thiago Augusto Soligo²; Eduardo Yamashita³; Ulisses de Pádula Pereira⁴; José Luiz Pedreira Mouriño¹; Maurício Laterça Martins¹

¹ AQUOS - Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, UFSC, Rodovia Admar Gonzaga 1346, 88037-000, Florianópolis, SC, Brazil.

² DSM- Produtos Nutricionais Costa Rica, Industrial Park Z, Santo Domingo de Heredia, 40301, Heredia, Costa Rica.

³ DSM- Produtos Nutricionais Brasil S.A, Avenida Juscelino Kubitschek, 1909, 5º floor, São Paulo, Brazil.

⁴ LABBEP- Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Laboratório de Bacteriologia de Peixes, UEL, Rodovia Celso Garcia Cid PR-445, km 380, 86057-970, Londrina, PR, Brazil.

*Autor Correspondente: Domickson Silva Costa (AQUOS) - Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, UFSC, Rodovia Admar Gonzaga 1346, 88037-000, Florianópolis, SC, Brazil. E-mail: domicksonsc@hotmail.com.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the hematoimmunological effects of joint dietary supplementation of immunomodulators (β -glucans-nucleotides) and different levels of vitamins for Nile tilapia after physical and acute stress. For that, 4 treatments with different experimental diets were used: food with indicated level of vitamin (Vit ind); Vit ind + Immunomodulator 0.5% (Vit ind+Immune); food with a high level of vitamin (Vit high), Vit high + immunomodulator 0.5% (Vit high+Immune). The experimental design included 560 fish (3.0 ± 0.68 g of initial weight and 5.33 ± 0.66 cm of initial length), in 28 tanks and 25 fish per tank, with 7 replications. After 60 days of supplementation, the animals had a weight of 33.30 ± 7.6 g and a length of 11.97 ± 0.94 cm, the water temperature was set to 20°C and two complete biometries were performed. Subsequently, the animals were conditioned to two stress factors: physical (I), with three temperature fluctuations: 20°C to 30°C/30°C to 20°C/20°C to 30°C; acute (II), where the same animals were placed in plastic bags with dechlorinated water and shaken for 5 minutes and returned to their respective tanks. In order to collect hematoimmunological data, 140 animals were used after stress. Data analysis was performed using two-way ANOVA. In the immunological parameters, the antimicrobial titer and total plasma protein were significantly higher in fish that did not receive immunomodulator. Differently, the agglutinating titer increased in fish fed with lower levels of vitamin, while the immunoglobulin showed interaction of the level of vitamin x immunomodulator, with higher concentration in Pre high+Immune. In summary, the inclusion of immunomodulators increased the animals' resistance to physical and acute stress, improved hematoimmunological parameters, and the high level of vitamin did not seem to modulate immune responses.

Keywords: Aquaculture, supplementation, stress, immune system, immunomodulatory effect, vitamin.

2.1 INTRODUÇÃO

Oreochromis niloticus é a segunda espécie mais cultivada no mundo (PRABU et al., 2019) e a mais cultivada no Brasil. Dos organismos aquáticos cultivados no Brasil, segundo a Associação Brasileira da Piscicultura (Peixe Br, 2022), a tilápia em 2021 foi responsável 63,5% do total produzido. Algumas características do cultivo de tilápia que a torna atrativa são: capacidade de produção em sistema intensivo e superintensivo (BRITO et al., 2017), rusticidade de manejo, resistência a determinadas doenças, resistência temperaturas (EL-SAYED; KAWANNA, 2008), oxigênio dissolvido e salinidade. Além disso, é um peixe com hábito onívoro que aceita com facilidade alimentação exógena, possui elevada taxa de crescimento e tem grande aceitação pelos consumidores (EL-SAYED, 2005; BARROSO et al., 2015; SIQUEIRA et al., 2021).

Apesar da rusticidade e resistência dessa espécie, alguns problemas assolam o seu cultivo devido a enfermidades parasitárias, fúngicas ou bacterianas. Dentre as parasitárias estão o *Ichthyophthirius multifiliis*, *Trichodina* sp., *Ambiphyra* sp., *Apiosoma* sp., monogenoidea e digenea (ZANOLO; YAMAMURA, 2006; SILVA et al., 2021). Já com relação às bacterianas destaca-se as infecções por *Edwardsiella tarda*, *Francisella noatuanensis orientalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus iniae*, *Aeromonas* sp., entre outras (FIGUEIREDO; LEAL, 2008). Além disso, o cultivo também sofre com manejo inadequado e com as baixas temperaturas, principalmente no período de inverno nas regiões subtropicais (ZERAI; FITZSIMMONS; COLLIER, 2010; NOBREGA et al., 2020). Normalmente, nesses locais, entre o fim do outono e o início da primavera as águas de cultivo registram baixas temperatura, entre 11°C e 13°C, valores próximos da letalidade para espécies como a tilápia-do-nilo, uma vez que seu conforto térmico é entre 26°C e 30°C (ALTUN; TEKELIOĞLU; DANABAŞ, 2006; KUBITZA, 2006; ZADINELO et al., 2020).

Em decorrência de doenças, deficiência nutricional, queda e oscilação de temperatura no inverno, densidade de estocagem e a fatores neuroendócrinos, o sistema imunológico dos peixes é afetado deixando-os menos tolerantes ao manejo e ocasionando mortalidade (KUBITZA, 2006; FALCON et al., 2007; ZADINELO et al., 2020). Na tentativa de prevenir essas perdas, antibióticos e quimioterápicos têm sido utilizados como medidas profiláticas e também como tratamento (DING; HE, 2010; WANG et al., 2019). No entanto, o uso indiscriminado desses pode levar ao acúmulo de substâncias nos tecidos dos peixes, além do surgimento de “superbactérias” que não respondem aos tratamentos com antibióticos (AKANMU, 2018; KRAEMER; RAMACHANDRAN; PERRON, 2019).

Em razão a problemática do uso de antibióticos e das situações desfavoráveis já elucidadas, torna-se necessária a inserção de novos produtos que possam saná-los. A exemplo desses produtos, estão as vitaminas, pois estão envolvidas em diversos processos fisiológicos, metabólicos, crescimento, saúde e na reprodução (MCDOWELL, 2003; EL-SAYED; IZQUIERDO, 2022) e também imunomoduladores, pois os mesmos tendem a melhorar o sistema imunológico, neutralizar o estado imunossupressor e aumentar a resistência natural (BAGNI et al., 2005; ABDELRAZEK et al., 2017). Os imunomoduladores são microorganismos não virulentos (GANNAM; SCHROCK, 1999), seus componentes e subprodutos incluem ampla variedade de agentes químicos, polissacarídeos, mananoligossacarídeos, extrato animal e extrato vegetal (ABDELRAZEK et al., 2017). Alguns exemplos dessas substâncias são nucleotídeos e β -glucanos (XU et al., 2015; DAWOOD et al., 2020).

β -glucano é um polissacarídeo estrutural formado por bloco de glicose encontrado na parede celular de bactérias, fungos, leveduras, protozoários e plantas (WISMAR et al., 2010; SELIM; REDA, 2015). Sua estrutura compreende ao tipo de ligação β -(1,3) e β -(1,6) em ordem não repetitiva e também não aleatória, que possui cadeias laterais de comprimentos variados (CHAGAS et al., 2013; ARAMLI; KAMANGAR; NAZARI, 2015). São conhecidos por estimular o mecanismo de defesa inato, aumentar atividade fagocitária de macrófagos, combater patógenos e estresse (RINGØ et al., 2016; PENNEY et al., 2019; LU et al., 2019), estimular atividades biológicas como antimicrobiana, efeito antioxidante e anti-inflamatório (DAWOOD et al., 2020).

Resumidamente, β -glucanos se ligam e ativam as células fagocitárias que produzem citosinas, promovem reação em cadeia e aumentam a produção de células fagocitárias, alertando o sistema imunológico para combater patógenos, estresse e desafios ambientais, tornando-se um agente profilático que aumenta a resistência do animal. Esse peptídeo tem grande potencial para aquicultura no combate a patógenos e estresse, e no uso alternativo aos antibióticos e quimioterápicos (POHLENZ; GATLIN, 2014; WATTS et al., 2017; (DAWOOD; KOSHIO; ESTEBAN, 2018; YAMAMOTO et al., 2018).

Os nucleotídeos assim com β -glucanos possuem origem tanto vegetal quanto animal, e podem, portanto, ser encontrados nas células de leveduras (GIL, 2002; FEGAN, 2006). São compostos intracelulares com baixo peso molecular, de base nitrogenada, purina ou pirimidina, açúcar, uma pentose e um ou mais grupo fosfato (GIL, 2002). De acordo com Li; Zhao; Gatlin (2015); Lehninger et al. (2018) e Bowyer et al. (2019), os nucleotídeos estão envolvidos em funções tanto bioquímicas e fisiológicas essenciais: decodificação de informações genéticas, precursores de ácidos nucleicos como ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico

(RNA), mediação do metabolismo energético, componentes estruturais de cofatores enzimáticos, participação na sinalização celular, e estão associados à capacidade de modular ácidos graxo poliinsaturado de cadeia longa (LC-PUFA).

Além das funções já atribuídas, esse nutriente é capaz de modificar as respostas imunológicas (RINGØ et al., 2012) e está envolvido em processos como assimilação de nutrientes essenciais à vitelogenese, desempenho reprodutivo (ARSHADI et al., 2018), ativação e proliferação de linfócitos, fagocitose em macrófagos, resposta de imunoglobulinas, microbiota intestinal, expressão genética de certas citocinas (GIL, 2002), aumento do crescimento, resposta imune e resistência a doenças. Embora os nucleotídeos não sejam caracterizados como essenciais para os peixes, por serem produzidos naturalmente, sua presença é limitada em tecidos com rápida divisão mitótica (ROSSI; XAVIER; RUTZ, 2007; REDA et al., 2018).

Em decorrência da escassez de estudos que relacionem a suplementação conjunta de mais de um imunomodulador e a carência de estudos que compare nível alto e nível “basal” de vitaminas, bem como a sinergia de imunomodulador x vitamina; este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos hemato-imunológicos da suplementação dietética conjunta de β -glucanos-nucleotídeos e diferentes níveis de vitaminas e o possível sinergismos entre esses fatores para tilápias-do-nilo após estresse físico e agudo.

2.2 METODOLOGIA

2.2.1 Material biológico

As tilápias-do-nilo pertencem a linhagem GIFT, de uma população monossexo masculina, com peso inicial de $3,00 \pm 0,68$ g e comprimento de $5,33 \pm 0,66$ cm, oriundas do Campo Experimental de Piscicultura de Camboriú – CEPC/EPAGRI-SC. O complexo imunomodulador (Rovimax Boost) e o premix vitamínico e mineral *Optimum Vitamin Nutrition* (OVN) foram fabricados pela empresa DSM[®], São Paulo, Brasil. A *Streptococcus agalactiae* S13 sorotipo Ib foi isolada de um surto de mortalidade em uma fazenda de tilápia localizada no estado do Paraná por Facimoto et al. (2017) e concedida ao Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos - AQUOS, UFSC. A sequência completa do genoma está disponível em bancos de dados públicos DDBJ / EMBL / GenBank sob o número de acesso CP018623 e BioProject número PRJNA356737. Os procedimentos de manejo com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC 2015231120).

2.2.2 Dietas experimentais

De forma geral, as dietas normalmente são formuladas atendendo as exigências nutricionais do animal, no entanto, essa formulação não prevê injúrias que o animal possa sofrer no decorrer do cultivo como doenças bacterianas, parasitárias, virais e fatores estressantes como o manejo inadequado e as temperaturas baixas. Diante desse fato, este estudo buscou fornecer dietas experimentais que não só contemplem as exigências nutricionais da tilápia indicada pelo NRC (2011), mas também que possam promover resistência desse animal contra fatores estressantes ou adversidades do ambiente de cultivo.

Para tal, foram formuladas quatro dietas experimentais que atendem às exigências nutricionais da espécie de acordo com o NRC (2011) e Furuya (2010) (Tabela 3). As dietas produzidas são isocalóricas e isoproteicas com dois diferentes níveis de vitaminas: o nível normal ou “basal” e o alto nível, e a presença ou não do complexo imunomodulador Rovimax Boost DSM[®], na concentração de 5,0 kg ton⁻¹ nas rações. A recomendação do fabricante para a inclusão do Premix Rovimax DSM[®] é de 1,5 a 2,0 kg ton⁻¹.

As dietas foram produzidas por extrusão em pellets de 2 mm. Utilizou-se um misturador horizontal (Inbramaq, Riberão Preto, Brazil), para misturar os ingredientes secos e a ração foi extrusada em extrusora de rosca simples MX40 (Inbramaq, Riberão Preto, Brazil). Os parâmetros de extrusão foram averiguados e previamente ajustados, dentre os quais: a temperatura na cabeça do canhão (85 °C), o nível de umidade (24 %) foi atingido com água deionizada. Após a extrusão, a ração foi seca em estufa a 50 °C por 4 h, seguida de embalagem e armazenamento a -20 °C até o uso.

A determinação da composição centesimal da dieta foi realizada pelo Laboratório de Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (LabNutri/UFSC), seguindo o protocolo padrão pela AOAC de acordo com Baur; Ensminger (1977), incluindo níveis de umidade (as amostras foram secas a 105 °C até peso constante, método 950.01), proteína bruta (Kjeldahl, método 945.01), extrato etéreo (Soxhlet, método 920.39C) e matéria mineral (por incineração por mufla, método 942.05) (Tabela 3).

Tabela 3 - Formulação e composição centesimal das dietas experimentais: ração com nível indicado de vitamina (Vit_{ind}); Vit_{ind} + Imunomodulador (Vit_{indl+immune}); ração com nível alto de vitamina (Vit_{high}); Vit_{high} + imunomodulador (Vit_{high+immune}).

| Ingredientes (g kg⁻¹) | Vit_{ind} | Vit_{indl+immune} | Vit_{high} | Vit_{high+immune} |
|--|--------------------------|----------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| Vísceras de Frango | 155 | 155 | 155 | 155 |
| Farelo de Soja | 380 | 380 | 380 | 380 |
| Milho | 307,2 | 307,2 | 307,2 | 307,2 |
| Protenose | 55 | 55 | 55 | 55 |
| Farelo de Trigo | 80 | 80 | 80 | 80 |
| Fosfato Dicálcico | 7,4 | 7,4 | 7,4 | 7,4 |
| DL-Metionina | 4,6 | 4,6 | 4,6 | 4,6 |
| Sal | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Premix Mineral ¹ | 30 | 30 | 30 | 30 |
| A (KUI) | 7500 | 7500 | 11000 | 11000 |
| C (mg) | 200 | 900 | 300 | 1000 |
| D (UI) | 1500 | 1500 | 2000 | 2000 |
| E (mg) | 50 | 100 | 300 | 350 |
| K (Menadiona) (mg) | 3 | 3 | 10 | 10 |
| B1 (Tiamina) (mg) | 2 | 2 | 20 | 20 |
| B2 (Riboflavina) (mg) | 4 | 4 | 20 | 20 |
| B3 (Niacina) (mg) | 35 | 35 | 120 | 120 |
| B5 (ácido pantotênico) (mg) | 10 | 10 | 50 | 50 |
| B6 (Pirodoxina) (mg) | 4 | 4 | 25 | 25 |
| B7 (Biotina) (mg) | 0,1 | 0,1 | 1 | 1 |
| B9 (Ácido Fólico) (mg) | 4 | 4 | 7 | 7 |
| B12 (Cianocobalamina) (mg) | 0,02 | 0,02 | 0,05 | 0,05 |
| Imunomodulador ² | 0* | 50 | 0* | 50 |
| Composição centesimal³ | | | | |
| Matéria Seca (%) | 90,42 | 89,98 | 90,43 | 90,49 |
| Proteína (%) | 38 | 37,95 | 37,99 | 37,94 |
| Proteína Digestível (%) | 34,68 | 34,64 | 34,67 | 34,63 |
| Extrato Etéreo (%) | 5,2 | 5,17 | 5,19 | 5,17 |
| Energia(kcal/kg) | 4496,15 | 4476,09 | 4492,13 | 4472,08 |
| Energia Digestível (Kcal/kg) | 3701,28 | 3685,84 | 3698,19 | 3682,75 |
| Fibra Bruta (%) | 3,13 | 3,12 | 3,13 | 3,12 |
| Cinzas (%) | 6,08 | 6,08 | 6,08 | 6,08 |

Fonte: Elaborado pelo Autor

¹Premix Mineral (0,3%): Cobre (mg) 5,00; Ferro (mg) 85,00; Manganês (mg) 25,00; Cobalto (mg) 0,05; Iodo (mg) 1,00; Zinco (mg) 80,00; Selênio (mg) 0,25.

²Imunomodulador: Betaglucanos (g.ton⁻¹) 1000,00; Nucleotídeos (ppm) 150,00.

³ Composição centesimal da matéria seca.

*Os espaços vazios foram preenchidos com carbonato (CaCO₃).

2.2.3 Delineamento experimental

Foram utilizados um total de 560 juvenis de tilápia-do-nilo com peso inicial de 3,0±0,68 g e comprimento de 5,33±0,66 cm distribuídos em 28 unidades experimentais (UE) de polietileno com volume útil de 80 L, totalizando 20 animais por tanque, com 7 repetições

para cada tratamento. Os peixes foram aclimatados durante 15 dias e alimentados com ração comercial recomendada pelo produtor durante esse período. Após aclimação, esses animais foram alimentados durante 60 dias com quatro dietas experimentais distintas:

Ração com nível indicado de vitamina (Vit_{ind});

Ração com nível indicado de vitamina + Imunomodulador 0,5% (Vit_{ind+Immune});

Ração com alto nível de vitamina (Vit_{high});

Ração com alto nível de vitamina + imunomodulador 0,5% (Vit_{high+Immune}).

A alimentação dos peixes ocorreu de acordo com a tabela de alimentação proposta pela empresa EPAGRI (SILVA; MARCHIORI, 2018), que possui como indicativos a temperatura e o tamanho dos peixes. Para monitorar o crescimento e ajustar o fornecimento de ração foram realizadas biometrias semanais. O excesso de alimentos e excrementos eram retirados dos tanques duas vezes ao dia por sifonagem.

Durante o período experimental, as UEs foram acopladas a um sistema de recirculação semiaberto de água (*recirculation aquaculture systems*-RAS) com filtragem mecânica, biológica, desinfecção ultravioleta e fotoperíodo de 12 horas (OWATARI et al., 2018). Os parâmetros de qualidade como potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), amônia total, amônia tóxica e nitrito foram mensurados pelo método colorimétrico com o Kit Labcon Test[®], Brasil e a temperatura foi mensurada por termômetro. Os parâmetros de qualidade de água permaneceram dentro da faixa segura para peixes descrita por Leira et al. (2017) como segue: pH $7,3 \pm 1,5$; OD $6,0 \pm 0,3$ mg L⁻¹; amônia total $2,4 \pm 1,3$ mg L⁻¹; amônia tóxica $0,006 \pm 0,003$ mg L⁻¹; nitrito $0,30 \pm 0,20$ mg L⁻¹ e a temperatura $26,5 \pm 1,3$ °C.

Após 60 dias de suplementação, os peixes apresentaram peso de $33,30 \pm 7,6$ g e comprimento de $11,97 \pm 0,94$ cm e foram submetidos ao manejo de inverno, no qual a temperatura da água foi regulada para 20°C e realizada duas biometrias completas sem uso de anestésico. Posteriormente, os animais foram condicionados a dois fatores de estresse: físico (I), no qual se obteve três oscilações de temperatura: 20 °C para 30 °C; de 30 °C para 20 °C e de 20 °C para 30 °C; agudo (II), no qual os mesmos animais foram acondicionados em sacos plásticos com água declorada e agitados por 5 minutos e devolvidos para suas respectivas UEs.

Ao final do período experimental (pós estresse), 140 peixes foram amostrados para análises hematológicas e imunológicas.

2.2.4 Análises hematológicas

Ao final do experimento, cinco peixes por unidade experimental foram anestesiados com solução de eugenol (75 mg L⁻¹). O sangue foi coletado por punção do vaso caudal com

seringa de 3 mL contendo solução de anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA 10%), para análises hematológicas. Posteriormente, as extensões sanguíneas foram feitas em duplicatas e corados com a coloração May-Grunwald-Giemsa-Wright (RANZANI-PAIVA et al., 2013) para contagem diferencial de leucócitos e contagem total de trombócitos. Uma alíquota de sangue foi usada para determinar o hematócrito (GOLDENFARB et al., 1971), e outra foi usada para quantificar o número total de eritrócitos (RBC) em uma câmara de Neubauer após diluição 1: 200 em solução de Dacie modificada de acordo com Blaxhall; Daisley (1973). A análise de hemoglobina foi feita usando o método da cianometahemoblonia, enquanto o volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram realizadas por meio das equações como descritas em Ranzani-Paiva et al. (2013).

2.2.5 Análises imunológicas

O sangue restante usado na análise hematológica foi centrifugado a 1400 G por 15 min a 4 °C para obter plasma sanguíneo. O plasma sanguíneo foi combinado em *pools* de cinco peixes por unidade experimental e armazenado a 20 °C para análise imunológica.

A concentração de proteína plasmática total foi medida usando um kit comercial de proteína total (Lab Test®). A imunoglobulina total foi medida de acordo com o método de Amar et al. (2000), no qual 100 µL de plasma foram adicionados a 100 µL de solução de polietilenoglicol (PEG) a 12% (Sigma-Aldrich) e incubados à temperatura ambiente (24 °C) por 2 h para precipitação das moléculas de imunoglobulina. O precipitado foi sedimentado por centrifugação (5000 g a 4°C por 10 min). Após a quantidade total de proteína foi medida a partir do sobrenadante com um kit comercial (Lab Test®), e albumina bovina foi usada para construir a curva padrão. A concentração de imunoglobulina foi expressa em mg mL⁻¹ de acordo com a fórmula: Imunoglobulina total = proteína total no plasma - proteína total tratada com PEG.

O título da atividade de aglutinação foi realizado em microplacas de fundo em U de 96 poços, onde o plasma foi diluído em uma proporção de 1: 1 em tampão fosfato-salino (PBS) no primeiro poço (50 µL de solução de PBS: 50 µL de plasma) e realizando diluições de 1: 2 em série até 12º poço. Posteriormente, uma concentração de 50 µL de *S. agalactiae* inativado com formalina (10%) foram adicionados a todos os poços. A microplaca foi incubada a 25 °C por 18 h em câmara umidificada. A aglutinação foi confirmada pela observação de um precipitado no fundo do poço e foi considerada como o recíproco da última diluição que apresentou aglutinação (SILVA et al., 2009).

O título antimicrobiano do plasma foi determinado contra *S. agalactiae* em microplacas de fundo plano de 96 poços de acordo com Silva et al. (2009). O inóculo de *S. agalactiae* foi cultivado em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) por 24 h a 28 °C, preparado na concentração de 0,2 na escala de MacFarland e diluído em meio de caldo pobre (PB) a 1×10^7 UFC mL⁻¹. O plasma foi diluído na proporção de 1: 3 em meio de caldo pobre (PB) no primeiro poço (50 µL de plasma: 150 µL de PB), e diluições seriadas de 1: 2 foram realizadas até o 12º poço. Para os controles positivo e negativo, a solução salina foi diluída em PB, assim como foi feito com o plasma. Finalmente, 20 µL de *S. agalactiae* foram adicionados aos poços contendo plasma diluído e o controle positivo. As microplacas foram incubadas por 24 h a 28 °C. O crescimento do microrganismo é lido no leitor de microplaca, no comprimento de onda de 550 nm. O título antimicrobiano foi o recíproco da última diluição que apresentou atividade antibacteriana com inibição total do crescimento microbiano.

2.2.6 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos a testes de Shapiro-Wilk e Levene para avaliar a normalidade e homocedasticidade de variância, respectivamente. Os dados não paramétricos foram transformados em $\log_{10}(x + 1)$. Posteriormente, todos os dados foram submetidos à análise de variância de dois fatores (Two-way - ANOVA-*analysis of variance*) e quando apropriado, as médias foram separadas pelos testes de Tukey e Scheffé. Todos os testes foram realizados a 5% de significância, utilizando o *software Statistica* versão 10.0.

2.3 RESULTADOS

Durante o ensaio, incluindo o manejo de inverno e o estresse experimental, nenhuma mortalidade foi encontrada, indicando a forte resistência da linhagem dos peixes.

2.3.1 Análises hematológicas

A adição do imunomodulador aumentou significativamente a concentração de leucócitos totais e linfócitos ($p < 0,05$). Já com relação ao nível de vitamina, a maior concentração dessa influenciou positivamente no aumento do Hb e HCM ($p < 0,05$) (Tabela 4).

As maiores concentrações de Hb e HCM foram encontradas no grupo suplementado com maior nível de vitamina, enquanto as menores concentrações foram observadas no grupo com nível indicado de vitamina.

As contagens de trombócitos, basófilos e neutrófilos, bem como VCM, CHCM, Htc, glicose plasmática e RBC não foram afetadas ($p>0,05$) por nenhum dos tratamentos deste estudo (Tabela 4).

Tabela 4 – Parâmetros hematológicos de tilápia-do-nylo (média \pm desvio padrão) após 60 dias com dietas suplementadas com: ração com nível indicado de vitamina (Vit_{ind}); Vit_{ind} + Imunomodulador (Vit_{ind+Immune}); ração com alto nível de vitamina (Vit_{high}); Vit_{high} + Imunomodulador (Vit_{high+Immune}). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indica diferença estatística quanto o nível de vitamina (A,B) e letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística na inclusão de imunomodulador (a,b).

| Parâmetros | Vit _{ind} | Vit _{ind+Immune} | Vit _{high} | Vit _{high+Immune} | Valor de p | | |
|---|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------|--------------|--------|
| | | | | | Nível vita. | Imuno. | Inter. |
| Trom (x 10 ³ μ L ⁻¹) | 4,59 \pm 2,18 | 4,37 \pm 2,50 | 5,08 \pm 2,35 | 4,17 \pm 2,24 | 0,716 | 0,175 | 0,407 |
| WBC (x 10 ⁵ μ L ⁻¹) | 2,34 \pm 0,44 ^b | 2,53 \pm 0,29 ^a | 2,33 \pm 0,38 ^b | 2,37 \pm 0,33 ^a | 0,141 | 0,046 | 0,199 |
| Lin (x 10 ³ μ L ⁻¹) | 218,64 \pm 40,11 ^b | 236,26 \pm 30,40 ^a | 218,01 \pm 39,08 ^b | 225,40 \pm 35,07 ^a | 0,311 | 0,030 | 0,366 |
| Mon (x 10 ³ μ L ⁻¹) | 11,61 \pm 1,67 | 15,78 \pm 1,69 | 11,47 \pm 2,0 | 15,16 \pm 1,52 | 0,874 | 0,111 | 0,918 |
| Neu (x 10 ³ μ L ⁻¹) | 2,17 \pm 0,98 | 1,48 \pm 0,45 | 1,97 \pm 0,83 | 1,83 \pm 1,04 | 0,922 | 0,489 | 0,614 |
| Baso (x 10 ³ μ L ⁻¹) | 1,10 \pm 0,95 | 1,20 \pm 0,98 | 1,10 \pm 0,69 | 1,21 \pm 1,00 | 0,544 | 0,205 | 0,505 |
| RBC (x 10 ⁶ μ L ⁻¹) | 2,34 \pm 0,38 | 2,53 \pm 0,29 | 2,33 \pm 0,38 | 2,34 \pm 0,33 | 0,095 | 0,079 | 0,139 |
| Htc (%) | 21,86 \pm 5,02 | 24,34 \pm 4,80 | 24,46 \pm 4,73 | 23,81 \pm 4,81 | 0,171 | 0,098 | 0,091 |
| Hb (g dL ⁻¹) | 6,7 \pm 0,93 ^B | 6,86 \pm 0,66 ^B | 7,72 \pm 0,72 ^A | 7,19 \pm 0,77 ^A | 0,029 | 0,540 | 0,256 |
| Glicose (mg dL ⁻¹) | 53,65 \pm 6,98 | 49,52 \pm 3,55 | 49,97 \pm 4,94 | 52,69 \pm 4,42 | 0,956 | 0,862 | 0,122 |
| VCM (fL) | 0,96 \pm 0,21 | 0,97 \pm 0,22 | 01,04 \pm 0,17 | 01,01 \pm 0,16 | 0,159 | 0,993 | 0,374 |
| HCM (g dL ⁻¹) | 0,29 \pm 0,05 ^B | 0,27 \pm 0,03 ^B | 0,33 \pm 0,03 ^A | 0,31 \pm 0,03 ^A | 0,004 | 0,066 | 0,756 |
| CHCM (g dL ⁻¹) | 31,09 \pm 2,16 | 28,45 \pm 3,02 | 31,03 \pm 0,57 | 30,26 \pm 1,56 | 0,193 | 0,102 | 0,616 |

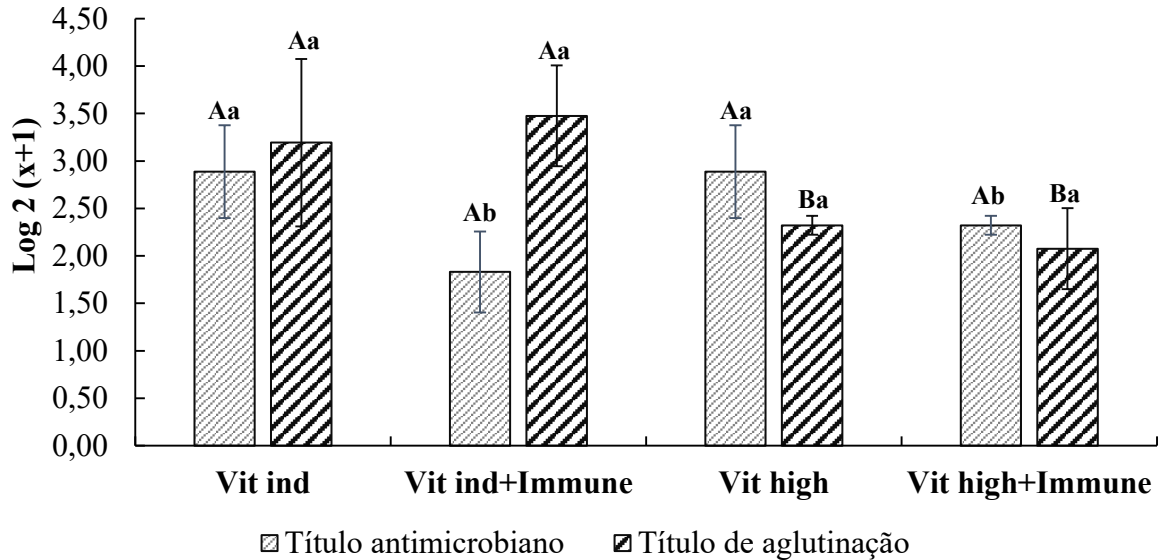
Fonte: Elaborado pelo Autor

RBC: Eritrócitos; Trom: Trombocitos; WBC: Células brancas; Lin: Linfócitos; Mon: Monócitos; Neu: Neutrófilos; Baso: Basófilo; Htc: Hematócrito; Hb: Hemoglobina; VCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média. Nível de significância 95%.

2.3.2 Análises imunológicas

Após 60 dias de suplementação e posteriormente a submissão de manejo de inverno e ao estresse físico e agudo, a adição ou presença do imunomodulador promoveu incremento significativo das imunoglobulinas plasmáticas ($p<0,05$), porém, reduziu o título antimicrobiana e níveis de proteínas total plasmática ($p<0,05$), enquanto que o título de aglutinação foi influenciado pelo nível de vitamina ($p<0,05$). O título antimicrobiano apresentou maior concentração no grupo sem inclusão de imunomodulador quando comparado ao grupo com inclusão (Figura 2). No título de aglutinação foi observada maior concentração no grupo que recebeu nível indicado de vitamina (3,33 \pm 0,66 log₂ (x+1)) e a menor concentração foi observada no grupo de maior nível de vitamina (2,19 \pm 0,30 log₂ (x+1)) (Figura 2).

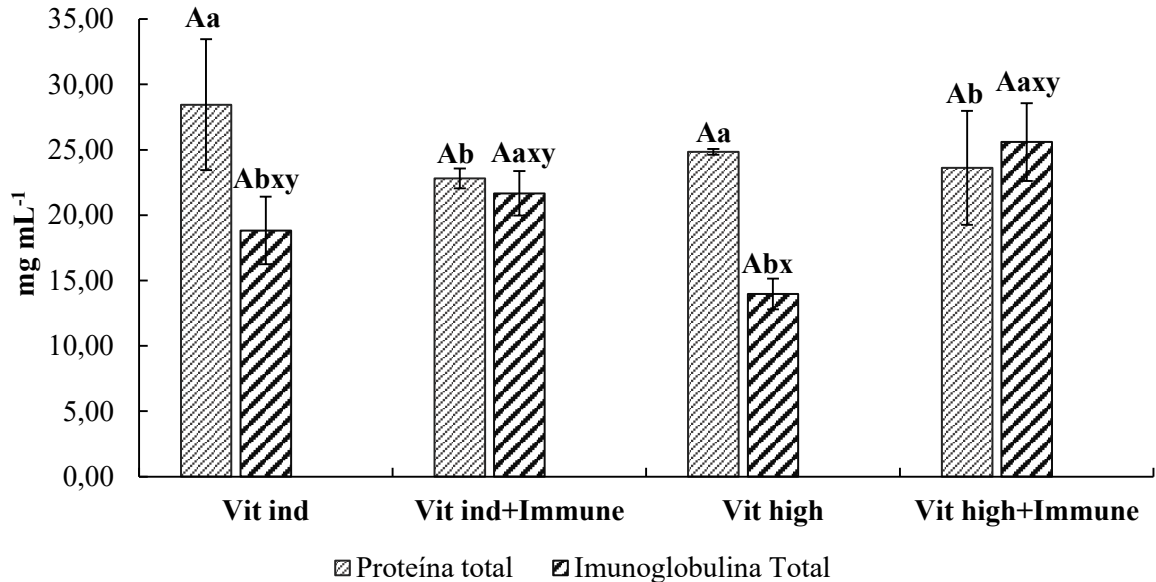
Figura 2 - Título antimicrobiano e Título de Aglutinação de tilápia-do-nylo após 60 dias com dietas suplementadas com: ração com nível indicado de vitamina (Vit_{ind}); Vit_{ind} + Imunomodulador (Vit_{ind+Immune}); Alto nível de vitamina (Vit_{high}); Vit_{high} + Imunomodulador (Vit_{high+Immune}). Letras maiúsculas diferentes indica diferença estatística quanto o nível de vitamina (A,B) e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística na inclusão de imunomodulador (a,b).



Fonte: Elaborado pelo autor

A imunoglobulina (Ig), apresentou diferença significativa tanto na inclusão de imunomodulador quanto na interação entre o nível de vitamina x inclusão de imunomodulador ($p < 0,05$) (Figura 3). Quando observado apenas o fator inclusão de imunomodulador, o grupo suplementado obteve maiores médias de Ig ($23,14 \pm 2,88 \text{ mg mL}^{-1}$) em comparação ao grupo não suplementado ($16,62 \pm 3,22 \text{ mg mL}^{-1}$). Nos níveis de proteína total plasmática (PTP) foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) quanto à inclusão de imunomodulador (Figura 3), com maior concentração no grupo sem inclusão de imunomodulador ($26,81 \pm 4,01 \text{ mg mL}^{-1}$) e a menor no grupo com inclusão ($23,18 \pm 2,76 \text{ mg mL}^{-1}$).

Figura 3 - Proteína Total Sérica e Imunoglobulina de tilapia-do-nilo após 60 dias de dieta suplementada com: ração com nível indicado de vitamina (Vit_{ind}); Vit_{ind} + Imunomodulador (Vit_{ind+Immune}); Alto nível de vitamina (Vit_{high}); Vit_{high} + Imunomodulador (Vit_{high+Immune}). Letras minúsculas diferentes indica diferença estatística na inclusão de imunomodulador (a b) e letras (xy) indica interação entre os fatores.



Fonte: Elaborado pelo autor

2.4 DISCUSSÃO

Os peixes alimentados com níveis mais elevados de vitaminas apresentaram maior concentração de Hb e HCM. Hb em peixes assim como em outros vertebrados é uma proteína com capacidade de se ligar a gases como oxigênio e carbono transportados (DI PRISCO et al., 2007). A elevação da concentração de Hb e HCM podem estar relacionados ao nível de vitamina C incorporado na dieta, pois os tratamentos com níveis mais elevados de vitaminas também apresentam níveis mais elevados de vitamina C. Além disso, segundo Mazur; Green; Carleton (1960), a vitamina C está envolvida na liberação de ferro relacionado à ferritina presente no fígado, bem como no transporte do ferro plasmático para o fígado e sua incorporação pela ferritina no tecido. Esse fato foi observado nos estudos de Lim et al. (2000), em que observou-se a interação de vitamina C e ferro na concentração de Hb no *catfish* (*Ictalurus punctatus*) e também nos estudos de Barros et al. (2002), em *O. niloticus*. Junior et al. (2010) relataram que a tilápia-do-nilo alimentada com diferentes níveis de colina (vitamina B8) também aumentou a taxa de Hb.

Houve aumento significativo de WBC e número de linfócitos em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com imunomoduladores. Imunomoduladores como β -glucanos e nucleotídeos têm capacidade de aumentar a resposta imune do organismo e fornecer resistência

a doenças bacterianas, virais, parasitárias e ao estresse (BURRELLS; WILLIAMS; FORNO, 2001; MIEST et al., 2016).

O aumento no número de leucócitos e linfócitos nos peixes alimentados com imunomodulador, pode estar associado à capacidade dos imunomoduladores de modular as repostas imunes, aumentando o número de leucócitos e também pode representar um melhor estado imunológico nos peixes. Segundo Moreira (2014), linfócitos são células imunocompetentes, portanto, são capazes de produzir respostas imunes. Resultados semelhantes foram encontrados por Sherif; Mahfouz (2019), em tilápia-do-nilo alimentada com β -glucano, por Reda et al. (2018), estudando os efeitos de nucleotídeos em tilápia-do-nilo e por Hassaan et al. (2018), em tilápia-do-nilo suplementada com levedura contendo β -glucano e nucleotídeo.

Contrariamente, Barros et al. (2014), não observaram aumento no número de linfócitos e leucócitos em tilápias alimentadas com β -glucano e vitamina C, mas observaram diminuição dessas células após estresse de transporte. Sado; Gimbo; Salles (2016), também não observaram diferença no número dessas células quando houve a inclusão de imunomodulador para tilápia-do-nilo. Os resultados de Barros et al. (2014) podem ser explicados pelo tempo de suplementação empregada nesse estudo (7; 15; 30; 45 dias), enquanto que os resultados de Sado; Gimbo; Salles (2016), podem estar associados à via de fornecimento da suplementação (banho e oral) e tempo de suplementação (15 dias). Ambas as metodologias diferem deste estudo.

De acordo com Rauta; Nayak; Das (2012), o mecanismo de defesa dos peixes é robusto e composto pelos sistemas inato e específico. O sistema inato fornece a primeira linha de defesa instantaneamente, na qual estão envolvidas células de defesa como monócitos, linfócitos, leucócitos granulares, componentes humorais e células citotóxicas inespecíficas, enquanto o sistema específico atua de forma incisiva e eficaz e está ligado à capacidade dos linfócitos T reconhecer antígenos, mas requer mais tempo para serem ativados. Algumas barreiras de defesa dos peixes são encontradas no soro sanguíneo como título antimicrobiano, título aglutinante, as imunoglobulinas (Ig) e proteína total plasmática (PTP). O título antimicrobiano, segundo Uribe et al. (2011), atua na membrana dos patógenos, inibindo proteases e assim inibindo a ação de toxinas bacterianas.

Neste estudo, a atividade do título antimicrobiano aumentou significativamente em peixes que não receberam imunomodulador. Resultados semelhantes foram encontrados por Ai et al. (2007), em estudo com dietas contendo β -glucanos para *Pseudosciaena crocea*, em que os parâmetros imunológicos diminuíram significativamente nos animais tratados com alto teor

desse peptídeo. Esses achados diferem dos encontrados por Lin et al. (2011) e Amphan et al. (2019) para *Cyprinus carpio koi* e *O. niloticus*, respectivamente. Eles também diferem de Koch; Oliveira; Zanuzzo (2021), que observaram aumento nas respostas imune inatas de *O. niloticus* alimentadas com β -glucanos, no entanto, essas respostas imunológicas foram reduzidas durante o período de 45 dias de alimentação.

De forma similar, Misra et al. (2006), utilizou 250 mg kg⁻¹ de β -glucanos na dieta de *Labeo rohita* e indicaram aumento nos parâmetros imunológicos até o dia 42, do total experimental (56 dias). Bagni et al. (2005) não observaram diferença nos parâmetros imunológicos de *Dicentrarchus labrax* suplementado durante 45 dias com β -glucanos, assim como Yamamoto et al. (2018) usando om β -glucanos na dieta de *Sciaenops ocellatus*; Chagas et al. (2013) com *Colossoma macropomum* e Berto et al. (2016), sobre as respostas hematoimunológicas de tilápia-do-nilo com dietas enriquecidas com fonte de nucleotídeos.

O fator tempo/duração bem como a via pela qual a suplementação foi administrada podem ser uma possível explicação para os resultados encontrados neste ensaio, pois durou 60 dias com suplementação oral. Segundo Sakai (1999), a eficácia de imunomoduladores utilizado pelo método de imersão e via oral diminuem a longo prazo. Outro argumento para explicar os resultados, é que pode haver uma overdose de imunomoduladores, pois Sakai (1999), menciona que adição de vários imunomoduladores induz a imunossupressão em peixes, e neste estudo foram fornecidos β -glucanos e nucleotídeos, além de alto teor de vitaminas com potencial imunomodulador, como as vitaminas C e E. Para Ching et al. (2021) pode ocorrer uma exaustão imunológica.

A aglutinação é um parâmetro importante para as respostas imunes e séricas em peixes, e os agentes responsáveis por esse mecanismo são as lectinas e imunoglobulinas. As lectinas são proteínas com capacidade de se ligar a alguns açúcares (por sítio de ligação a carboidrato) presentes na membrana dos patógenos promovendo a aglutinação ou opsonização (VORNHOLT; HARTMANN; KEUSGEN, 2007; MAGNADOTTIR, 2010). Entretanto, Swain (2006), relataram que as imunoglobulinas possuem maior poder de aglutinação, pois são produzidas pelos linfócitos B e possuem ação específica aos antígenos.

O título de aglutinação foi maior nos tratamentos com níveis indicados de vitamina em comparação com os tratamentos com níveis mais alto. No entanto, a imunoglobulina apresentou interação entre o nível de vitamina x imunomodulador e também diferença quanto a inclusão de imunomodulador. Os resultados deste estudo mostram que o alto teor de vitamina de uma forma geral, não foi capaz de aumentar o título aglutinante dos animais. Estes resultados, corroboram os achados de Peres; Lim; Klesius (2004), Lim et al. (2009) e Lim et al. (2010), em

pesquisas com tilápia-do-nilo suplementadas com vitamina E, inositol, vitamina C e E, respectivamente. Apesar da importância imunológica das lectinas presentes no soro e muco dos peixes, essa sua relevância ainda não está bem esclarecida, mas pode estar ligada ao combate aos microrganismos (NAKAMURA et al., 2001; TASUMI et al., 2004).

As concentrações de Ig no plasma da espécie em estudo enfatizam que houve uma interação entre o nível de vitamina e a inclusão de imunomoduladores, com maiores concentrações dessa proteína em Vit_{high+Immune}, (numericamente). Esse resultado pode indicar uma possível sinergia entre esses fatores, pois de forma isolada tanto os grupos suplementados com alto nível vitaminas e com imunomoduladores apresentaram concentração menores que a suplementação conjunta. Isso pode estar associado ao alto nível de vitamina C fornecido na dieta conjunta, já que essa vitamina possui forte propriedade antioxidante, causando um efeito protetor ao imunomodulador de danos oxidativos. Dawood et al. (2017) e Wu et al. (2020) também observaram efeitos sinérgicos entre vitamina C e o ácido ascórbico com β -glucano em *Pagrus major* e *Epinephelus fuscoguttatus*, respectivamente.

Além disso, a Ig nos grupos com inclusão de imunomodulador foram significativamente maiores que nos grupos sem inclusão, evidenciando uma melhor resposta dessa proteína pelos imunomoduladores. Analisando as concentrações de Ig somente no fator nível vitamina, notamos que as concentrações diminuem drasticamente como no tratamento Vit_{ind} e Vit_{high}. Níveis mais elevado de Ig, principalmente com a inclusão de imunomoduladores pode estar relacionada a uma resposta do sistema imunológico aos estresses sofridos por esses animais, pois de acordo com Vetvicka; Vannucci; Sima (2013), β -glucanos aumentam a resposta imune e a resistência ao estresse.

Em estudos anteriores, Lim et al. (2010); Guimarães et al. (2014), também evidenciaram que as vitaminas E e A não tiveram efeitos sobre a produção de Ig em *O. niloticus*. No mesmo estudo de Lim et al. (2010), esses observaram maiores níveis de Ig nas dietas com vitamina C (200 mg kg⁻¹), porém, esse aumento não foi significativo quando os peixes foram desafiados com *Streptococcus iniae*. El-Murr et al. (2019) e Abdelhamid; Elshopakey; Aziza (2020), observaram que a adição de β -glucanos na suplementação de *O. niloticus* aumentou os níveis séricos de imunoglobulinas-M (IgM) e globulinas. De forma similar, a IgM de *I. punctatus* aumentou com a inclusão de 1g kg⁻¹ de β -glucanos na ração durante 30 dias (PHU et al., 2016). Neamat-Allah; El-Hakim; Mahmoud (2020), constataram aumento moderado de IgM em tilápia-do-nilo quando tratadas com β -glucanos e estressadas com atrazina (pesticida). Reda et al. (2018), utilizando nucleotídeos (0,25%) na dieta de tilápia-do-nilo observaram maiores níveis de IgM, mas isso somente nos 15 dias iniciais, no dobro do período (30 dias), o

imunomodulador não teve efeito significativo. Murthy et al. (2009) forneceram alimentação conjunta de β -glucanos e nucleotídeos para camarões e notaram melhores respostas imunes desses animais.

A proteína total plasmática ajuda a determinar o estado geral dos peixes. Este parâmetro também é muito sensível ao estresse (MELO et al., 2009). De forma simplificada, a PTP é obtida calculando a soma de albuminas e de globulinas presentes no plasma (RODRIGUES et al., 2018). Neste ensaio observou-se que a concentração de proteína total foi influenciada pelo fator inclusão de imunomodulador, porém, diferentemente da Ig, os tratamentos com inclusão de imunomodulador apresentaram as menores concentrações de proteína total. Esses resultados podem estar relacionados à melhor resistência dos peixes suplementados com imunomoduladores e a menor resistência dos não suplementados, como reação ao estresse exercidos sobre os animais.

Ao analisar a glicose plasmática dos grupos sem inclusão de imunomoduladores, observou-se um aumento na sua concentração, embora não significativo, reforça a teoria de maior estresse sofrido pelos peixes. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Barros et al. (2015), para tilápia-do-nilo estressadas pelo frio, em que a inclusão de 0,8% de β -glucanos e 600mg kg⁻¹ de vitamina C obteve a menor concentração de proteína total e a maior concentração de globulinas, caracterizando uma resposta ao agente estressor.

Outros estudos Abdelhamid; Elshopakey; Aziza (2020) confirmaram que β -glucanos tenderam a diminuir o estresse causado por dizinon (pesticida) em tilápia-do-nilo. Melo et al. (2009) observaram que os machos de tilápia-do-nilo submetidas a hipóxia apresentaram maiores concentrações de proteína total e as fêmeas apresentaram maiores concentrações de albumina e γ -globulina. Diferentemente, Almeida et al. (2018), relataram que o estresse salino não foi suficiente para aumentar a proteína total de tilápia-do-nilo, possivelmente devido à idade dos peixes.

Em estudos recentes com imunomoduladores, Selim; Reda (2015) (3g kg⁻¹ de ração), Abu-Elala et al. (2018) (0,1% de inclusão na dieta) e El-Nobi et al. (2021) (simbióticos), observaram aumento da concentração de proteína total envolvendo o uso de β -glucanos no cultivo de tilápia-do-nilo, enquanto Tahmasebi-Kohyani et al. (2012), observaram aumento da proteína total em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) com a inclusão de 0,15% e 0,2% de nucleotídeos na dieta e estresse agudo induzido (30s fora d'água). Em contraste, Souza et al. (2020), mencionam que a proteína total de tilápia-do-nilo não foi afetada por inclusão de β -glucanos na água, assim como a do pargo (*Pagrus major*) sob estresse oxidativo provocado pela

exposição à água doce (HOSSAIN et al., 2016) e neste estudo, a PTP diminuiu com a inclusão de imunomoduladores, possivelmente uma resposta imune ao estresse.

2.5 CONCLUSÕES

Conclui-se que a inclusão de imunomodulador na dieta de tilápia-do-nylo proporcionou resistência ao estresse físico e agudo sofridos por esses animais. Além disso, foi capaz de melhorar o número de leucócitos e linfócitos. Observou-se também um possível sinergismo entre imunomodulador e alto nível de vitaminas nas respostas das imunoglobulinas. Ficou evidente também, a resposta imune dos peixes ao estresse e que o alto nível de vitamina não parece potencializar as respostas imunes.

2.6 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de pesquisa ao J.L.P. Mourinho (CNPq 301524/2017-3) e M.L. Martins (CNPq 306635/2018-6, 409821/2021-7) e pela bolsa de Pós-Doutorado de G.T. Jerônimo (CNPq 314239/2020-0, 102445/2022-2), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela Bolsa de Mestrado a D.S. Costa e I.L. Pereira, e 155524/2018-6. Os autores também agradecem à DSM *Nutritional Products* por fornecer o produto testado. Ao LABBEP pela cepa da bactéria *Streptococcus agalactiae* cedida ao laboratório AQUOS. Ao LABNUTRI pela produção da ração e ao Arthur Souza Ramos pelo suporte ao bioensaio. Este estudo foi parcialmente financiado pela CAPES (AUXPE 406/2021, código 001).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELHAMID, F. M.; ELSHOPAKEY, G. E.; AZIZA, A. E. Ameliorative effects of dietary *Chlorella vulgaris* and β -glucan against diazinon-induced toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 96, p. 213–222, 2020.

ABDELRAZEK, H. M. A. et al. Immunomodulatory effect of dietary turmeric supplementation on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1048–1054, 2017.

ABU-ELALA, N. M. et al. Efficacy of dietary yeast cell wall supplementation on the nutrition and immune response of Nile tilapia. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 44, n. 4, p. 333–341, 2018.

- AI, Q. et al. Effects of dietary β -1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 22, n. 4, p. 394–402, 2007.
- AKANMU, O. A. Probiotics, an Alternative Measure to Chemotherapy in Fish Production. In: **Probiotics - Current Knowledge and Future Prospects**. InTech, 2018.
- ALMEIDA, D. M. et al. Monitoring whole blood, plasma and serum variables of Nile tilapia during 24 hours, after capture stress. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 4, p. 1–9, 2018.
- ALTUN, T.; TEKELIOĞLU, N.; DANABAŞ, D. Tilapia Culture and Its Problems in Turkey. **E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences**, v. 23, n. 4, p. 473–478, 2006.
- AMAR, E. C. et al. Effects of dietary beta-carotene on the immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Fisheries Science**, v. 66, n. 6, p. 1068–1075, 2000.
- AMPHAN, S. et al. Feeding-regimen of β -glucan to enhance innate immunity and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* Linn., against *Aeromonas hydrophila* and *Flavobacterium columnare*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 87, p. 120–128, 2019.
- ARAMLI, M. S.; KAMANGAR, B.; NAZARI, R. M. Effects of dietary β -glucan on the growth and innate immune response of juvenile *Persian sturgeon*, *Acipenser persicus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 47, n. 1, p. 606–610, 2015.
- ARSHADI, A. et al. Dietary nucleotide mixture effects on reproductive and performance, ovary fatty acid profile and biochemical parameters of female Pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 515–523, 2018.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA (PEIXE BR). **Anuário 2022 Peixe BR da Piscicultura**. São Paulo: PeixeBr, 2022.
- BAGNI, M. et al. Short- and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 18, n. 4, p. 311–325, 2005.
- BARROS, M. M. et al. Níveis de Vitamina C e Ferro para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p. 2149–2156, 2002.
- BARROS, M. M. et al. Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed β -glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 39, n. 2, p. 188–195, 2014.
- BARROS, M. M. et al. Immunomodulatory Effects of Dietary β -glucan and Vitamin C in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L., Subjected to Cold-induced Stress or Bacterial Challenge. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 46, n. 4, p. 363–380, 2015.
- BARROSO, R. M. et al. **Gerenciamento genético da tilápia nos cultivos comerciais**. 1. ed. Palmas-TO: EMBRAPA, 2015.

BAUR, F. J.; ENSMINGER, L. G. The Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 54, n. 4, p. 171–172, 1977.

BDEL-FATTAH M. EL-SAYED. **Tilapia Culture**. 2. ed. Cambridge: CABI, 2005.

BERTO, R. DA S. et al. Yeast extract on growth, nutrient utilization and haemato-immunological responses of Nile tilapia. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 8, p. 2650–2660, 2016.

BLAXHALL, P. C.; DAISLEY, K. W. Routine haematological methods for use with fish blood. **J. Fish Bid**, v. 5, p. 771–781, 1973.

BOWYER, P. H. et al. Dietary nucleotides enhance growth performance, feed efficiency and intestinal functional topography in European Seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture Research**, v. 50, n. 7, p. 1921–1930, 2019.

BRITO, J. M. et al. Automação na tilapicultura: revisão de literatura. **NutriTime**, v. 14, n. 3, p. 5053–5062, 2017.

BURRELLS, C.; WILLIAMS, P. D.; FORNO, P. F. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 1. Effects on resistance to disease in salmonids. **Aquaculture**, v. 199, p. 159–169, 2001.

CHAGAS, E. C. et al. Desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com β -glucano. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 899–905, 2013.

CHING, J. J. et al. 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.

DAWOOD, M. A. O. et al. The role of β -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. **Aquaculture**, v. 523, p. 735205, 2020.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; ESTEBAN, M. Á. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 4, p. 950–974, 2018.

DAWOOD, M. A. O. et al. Hanges in the growth, humoral and mucosal immune responses following β -glucan and vitamin C administration in red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, n. 470, p. 214–222, 2017.

DI PRISCO, G. et al. Biogeography and adaptation of Notothenioid fish: Hemoglobin function and globin–gene evolution. **Gene**, v. 398, n. 1–2, p. 143–155, 2007.

DING, C.; HE, J. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 925–941, 2010.

- EL-MURR, A. ELHAKEEM I. et al. Immune-protective, antioxidant and relative genes expression impacts of β -glucan against fipronil toxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 94, p. 427–433, 2019.
- EL-NOBI, G. et al. Synbiotic Effects of *Saccharomyces cerevisiae*, Mannan Oligosaccharides, and β -Glucan on Innate Immunity, Antioxidant Status, and Disease Resistance of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 567, 2021.
- EL-SAYED, A. M.; IZQUIERDO, M. The importance of vitamin E for farmed fish - A review. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 2, p. 688–703, 2022.
- EL-SAYED, A.-F. M.; KAWANNA, M. Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 6, p. 670–672, 2008.
- FACIMOTO, C. T. et al. Whole-Genome Sequence of *Streptococcus agalactiae* Strain S13, Isolated from a Fish Eye from a Nile Tilapia Farm in Southern Brazil. **Genome Announcements**, v. 5, n. 35, 2017.
- FALCON, D. R. et al. Lipid and vitamin C in practical diets preparatory for winter for Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5, p. 1462–1472, 2007.
- FEGAN, D. F. Functional foods for aquaculture: benefits of NuPro® and dietary nucleotides in aquaculture feeds. In: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A.; HOWER, J. M. (Eds.). . **Biotechnologia nutricional nas indústrias de rações e alimentos**. Stamford: Alltech UK, 2006. p. 419–432.
- FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 8–14, 2008.
- FURUYA, W. M. **Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias**. 1. ed. GFM, 2010.
- GANNAM, A. L.; SCHROCK, R. M. Immunostimulants in Fish Diets. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 9, n. 4, p. 53–89, 1999.
- GIL, A. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 3, p. 1–4, 2002.
- GOLDENFARB, P. B. et al. Reproducibility in the Hematology Laboratory: The Microhematocrit Determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, n. 1, p. 35–39, 1971.
- GUIMARÃES, I. G. et al. Effects of dietary levels of vitamin A on growth, hematology, immune response and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 188, p. 126–136, 2014.
- HASSAAN, M. S. et al. Effects of dietary baker's yeast extract on the growth, blood indices and histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, n. 6, p. 1709–1717, 2018.

- HOSSAIN, MD. S. et al. Dietary nucleotide administration influences growth, immune responses and oxidative stress resistance of juvenile red sea bream (*Pagrus major*). **Aquaculture**, v. 455, p. 41–49, 2016.
- JUNIOR, A. C. F. et al. Revista Brasileira de Zootecnia Resposta hemática de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com colina e submetidas a estímulo por baixa temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1619–1625, 2010.
- KOCH, J. F. A.; DE OLIVEIRA, C. A. F.; ZANUZZO, F. S. Dietary β -glucan (MacroGard®) improves innate immune responses and disease resistance in Nile tilapia regardless of the administration period. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 112, p. 56–63, 2021.
- KRAEMER, S. A.; RAMACHANDRAN, A.; PERRON, G. G. Antibiotic Pollution in the Environment: From Microbial Ecology to Public Policy. **Microorganisms**, v. 7, n. 6, p. 180, 2019.
- KUBITZA, F. Atenção no manejo dos peixes na saída do inverno. **Panorama da Aquicultura**, p. 30–37, 2006.
- LEHNINGER, A. LESTER. et al. **I principi di biochimica di Lehninger**. 7. ed. Zanichelli, 2018.
- LEIRA, M. H. et al. Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **Pubvet**, v. 11, n. 1, p. 11–17, 2017.
- LI, P.; ZHAO, J.; GATLIN III, D. M. Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health. In: CHENG-SHENG LEE et al. (Eds.). **Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health**. 1. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015. p. 249–269.
- LIM, C. et al. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. **Aquaculture**, v. 185, p. 313–327, 2000.
- LIM, C. et al. Influence of dietary levels of lipid and vitamin E on growth and resistance of Nile tilapia to *Streptococcus iniae* challenge. **Aquaculture**, v. 298, n. 1–2, p. 76–82, 2009.
- LIM, C. et al. Growth Performance, Immune Response, and Resistance to *Streptococcus iniae* of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, Fed Diets Containing Various Levels of Vitamins C and E. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, n. 1, p. 35–48, 2010.
- LIN, S. et al. Effects of dietary β -1,3-glucan, chitosan or raffinose on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 31, n. 6, p. 788–794, 2011.
- LU, D. L. et al. The comparisons in protective mechanisms and efficiencies among dietary α -lipoic acid, β -glucan and L-carnitine on Nile tilapia infected by *Aeromonas hydrophila*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 86, p. 785–793, 2019.
- MAGNADOTTIR, B. Immunological Control of Fish Diseases. **Marine Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 361–379, 2010.

MAZUR, A.; GREEN, S.; CARLETON, A. Mechanism of Plasma Iron Incorporation into Hepatic Ferritin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 235, n. 3, p. 595–603, 1960.

McDowell, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 2003. 644 p.

MELO, D. C. et al. Perfil proteico de tilápia nilótica chitralada (*Oreochromis niloticus*), submetida ao estresse crônico por hipóxia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 61, n. 5, p. 1183–1190, 2009.

MIEST, J. J. et al. Dietary β -glucan (MacroGard®) enhances survival of first feeding turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae by altering immunity, metabolism and microbiota. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 48, p. 94–104, 2016.

MISRA, C. K. et al. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. **Aquaculture**, v. 255, n. 1–4, p. 82–94, 2006.

MOREIRA, C. Linfócitos. **Revista de Ciência Elementar**, v. 2, n. 1, 2014.

MURTHY, H. S. et al. Dietary β -Glucan and Nucleotide Effects on Growth, Survival and Immune Responses of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 21, n. 3, p. 160–168, 2009.

NAKAMURA, O. et al. Galectin containing cells in the skin and mucosal tissues in Japanese conger eel, Conger myriaster: an immunohistochemical study. **Developmental and Comparative Immunology**, p. 431–437, 2001.

NEAMAT-ALLAH, A. N. F.; EL-HAKIM, Y. A.; MAHMOUD, E. A. Alleviating effects of β -glucan in *Oreochromis niloticus* on growth performance, immune reactions, antioxidant, transcriptomics disorders and resistance to *Aeromonas sobria* caused by atrazine. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 5, p. 1801–1812, 2020.

NOBREGA, R. O. et al. Improving winter production of Nile tilapia: What can be done? **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100453, 2020.

NRC. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. 2. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 2011.

OWATARI, M. S. et al. Sylimarín as hepatic protector and immunomodulator in Nile tilapia during *Streptococcus agalactiae* infection. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 82, p. 565–572, 2018.

PENNEY, J. et al. Pure yeast beta-glucan and two types of yeast cell wall extracts enhance cell migration in porcine intestine model. **Journal of Functional Foods**, v. 59, p. 129–137, 2019.

PERES, H.; LIM, C.; KLESIUS, P. H. Growth, chemical composition and resistance to *Streptococcus iniae* challenge of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of dietary inositol. **Aquaculture**, v. 235, n. 1–4, p. 423–432, 2004.

PHU, T. M. et al. Effect of beta-glucans on hematological, immunoglobulins and stress parameters of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) fingerling. **Can Tho University Journal of Science**, v. 04, p. 105, 2016.

POHLENZ, C.; GATLIN, D. M. Interrelationships between fish nutrition and health. **Aquaculture**, v. 431, p. 111–117, 2014.

PRABU, E. et al. Tilapia – An Excellent Candidate Species for World Aquaculture: A Review. **Annual Research & Review in Biology**, p. 1–14, 2019.

RANZANI-PAIVA, M J T et al. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Maringá: Eduem, 2013. 140 p.

RAUTA, P. R.; NAYAK, B.; DAS, S. Immune system and immune responses in fish and their role in comparative immunity study: A model for higher organisms. **Immunology Letters**, v. 148, n. 1, p. 23–33, 2012.

REDA, R. M. et al. Effect of dietary yeast nucleotide on antioxidant activity, non-specific immunity, intestinal cytokines, and disease resistance in Nile Tilapia. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 80, p. 281–290, 2018.

RINGØ, E. et al. Use of Immunostimulants and Nucleotides in Aquaculture: A Review. **Journal of Marine Science: Research & Development**, v. 02, n. 01, 2012.

RINGØ, E. et al. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never ending story? **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 2, p. 219–282, 2016.

RODRIGUES, G. M. et al. Serum Biochemical Profile of Nile Tilapias (*Oreochromis niloticus*) Bred in Net Cages during Summer and Winter. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 1, p. 8, 2018.

ROSSI, P.; XAVIER, E.; RUTZ, F. Nucleotídeos na nutrição animal Alternative feed additives to colistin in swine production View project. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 1, p. 5–12, 2007.

SADO, R. Y.; GIMBO, R. Y.; SALLES, F. B. Routes of β -glucan administration affect hematological and immune responses of *Oreochromis niloticus*. **Archivos de Zootecnia**, v. 65, n. 252, p. 519–524, 2016.

SAKAI, M. Current research status of fish immunostimulants. **Aquaculture**, n. 172, p. 63–92, 1999.

SELIM, K. M.; REDA, R. M. Beta-Glucans and Mannan Oligosaccharides Enhance Growth and Immunity in Nile Tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v. 77, n. 1, p. 22–30, 2015.

SHERIF, A. H.; MAHFOUZ, M. E. Immune status of *Oreochromis niloticus* experimentally infected with *Aeromonas hydrophila* following feeding with 1, 3 β -glucan and levamisole immunostimulants. **Aquaculture**, v. 509, p. 40–46, 2019.

- SILVA, B. C. et al. Hematological and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by different routes. **Pesq. Vet. Bras**, v. 29, n. 11, p. 874–880, 2009.
- SILVA, B. C. DA; MARCHIORI, N. **Importância do manejo alimentar na criação de tilápia**. Florianópolis, EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina), 2018.
- SILVA, L. R. et al. Antiparasitic effect of *Mentha × villosa* hydrolate against monogenean parasites of the Nile tilapia. **Ciencia Rural**, v. 51, n. 10, 2021.
- SIQUEIRA, R. P. et al. Viabilidade econômica da produção da tilápia do Nilo como atividade secundária em propriedades rurais no Estado do Rio de Janeiro. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e38010212502, 2021.
- SOUZA, F. P. DE et al. Effect of β -glucan in water on growth performance, blood status and intestinal microbiota in tilapia under hypoxia. **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100369, 2020.
- SWAIN, P. Book review. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 21, n. 4, p. 472, 2006.
- TAHMASEBI-KOBYANI, A. et al. Effects of dietary nucleotides supplementation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance and acute stress response. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 2, p. 431–440, 2012.
- TASUMI, S. et al. Characteristics and primary structure of a galectin in the skin mucus of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 28, n. 4, p. 325–335, abr. 2004.
- URIBE, C. et al. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. **Review Article Veterinarni Medicina**, v. 56, n. 10, p. 486–503, 2011.
- VETVICKA, V.; VANNUCCI, L.; SIMA, P. The effects of β - glucan on fish immunity. **North American Journal of Medical Sciences**, v. 5, n. 10, p. 580, 2013.
- VORNHOLT, W.; HARTMANN, M.; KEUSGEN, M. SPR studies of carbohydrate–lectin interactions as useful tool for screening on lectin sources. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, n. 12, p. 2983–2988, 2007.
- WANG, A. et al. Use of probiotics in aquaculture of China—a review of the past decade. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 86, p. 734–755, 2019.
- WATTS, J. et al. The Rising Tide of Antimicrobial Resistance in Aquaculture: Sources, Sinks and Solutions. **Marine Drugs**, v. 15, n. 6, p. 158, 2017.
- WISMAR, R. et al. Dietary fibers as immunoregulatory compounds in health and disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1190, n. 1, p. 70–85, 2010.
- WU, B. et al. Effects of Ascorbic Acid and β -1,3-Glucan on Survival, Physiological Response and Flesh Quality of Cultured Tiger Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) during Simulated Transport in Water. **Biology**, v. 9, n. 2, p. 37, 2020.

XU, L. et al. Effects of dietary yeast nucleotides on growth, non-specific immunity, intestine growth and intestinal microbiota of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* ♀ × *Oreochromis aureus* ♂. **Animal Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 244–251, 2015.

YAMAMOTO, F. Y. et al. β -1,3 glucan derived from *Euglena gracilis* and Algamune™ enhances innate immune responses of red drum (*Sciaenops ocellatus* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 77, p. 273–279, 2018.

ZADINELO, I. V. et al. Avaliação de rações comerciais para a tilápia do Nilo durante o período de outono/inverno. **NutriTime**, v. 17, n. 3, p. 8717–8721, 2020.

ZANOLO, B.; YAMAMURA, H. Parasitas em tilápias-do-nilo criadas em sistema de tanques-rede. **Ciências agrárias**, v. 27, n. 2, p. 281–288, 2006.

ZERAI, D. B.; FITZSIMMONS, K. M.; COLLIER, R. J. Transcriptional Response of Delta-9-Desaturase Gene to Acute and Chronic Cold Stress in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, n. 5, p. 800–806, 2010.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste ensaio, os peixes que foram suplementados com dietas contendo inclusão de imunomoduladores eram mais ágeis e menos agressivos que o grupo sem inclusão. É válido ressaltar que talvez o fatorial usado neste ensaio (4 x 2), não tenha sido suficiente para avaliar o possível sinergismo entre os imunomoduladores e níveis de vitaminas. Recomenda-se, portanto, testar diferentes concentrações de imunomoduladores de forma isolada e também o teste conjunto dos mesmos nas dietas de peixes. No entanto, ressaltamos que os resultados deste estudo podem instigar pesquisas mais detalhadas futuramente, a respeito dos níveis mínimos e mais elevados e vitaminas, além da inserção de imunomoduladores nas dietas de peixes, principalmente como medidas profiláticas ao estresse de manejo e também ao estresse térmico, principalmente no inverno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- ABDELRAZEK, H. M. A. et al. Immunomodulatory effect of dietary turmeric supplementation on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1048–1054, 2017.
- ABDULRAHMAN, N. M.; AHMED, V. M. Comparative effect of probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*), prebiotic (Fructooligosaccharide) and their combination on some blood indices in young common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Iraqi Journal of Veterinary Medicine**, v. 40, n. 1, p. 9–15, 2016.
- AGROMIX. **Nutrição animal**. 2019. Disponível em: <http://www.agromixtosi.com.br/produto/163/14/premix-fish>. Acesso em: 16 abril. 2022.
- AKANMU, O. A. Probiotics, an Alternative Measure to Chemotherapy in Fish Production. In: **Probiotics - Current Knowledge and Future Prospects**. InTech, 2018.
- ALBRIGHT, L. J.; EVELYN, T. P. T.; NIKL, L. Influence of seven immunostimulants on the immune response of coho salmon to *Aeromonas salmonicida*. **Health & environment**, v. 12, n. 1, p. 7–12, 1991.
- ALBUQUERQUE, D. M.; HERRIG, E. A. DE; CAVICHIOLO, F. Aquicultura como ferramenta de interação entre Universidade e Sociedade. **Revista online de extensão e cultura**, v. 6, n. 12, p. 36–43, 2019.
- ALTUN, T.; TEKELIOĞLU, N.; DANABAŞ, D. Tilapia Culture and Its Problems in Turkey. **E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences**, v. 23, n. 4, p. 473–478, 2006.
- ALY, S. M.; MOHAMMED, M. F.; JOHN, G. **Echinacea as immunostimulatory agent in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) via earthen pond experiment**. 8^o International Symposium on Tilapia in Aquaculture. **Anais...8^o International Symposium on Tilapia in Aquaculture**, 2008.
- AMPHAN, S. et al. Feeding-regimen of β -glucan to enhance innate immunity and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* Linn., against *Aeromonas hydrophila* and *Flavobacterium columnare*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 87, p. 120–128, 2019.
- ANDERSON, J. S.; SUNDERLAND, R. Effect of extruder moisture and dryer processing temperature on vitamin C and E and astaxanthin stability. **Aquaculture**, v. 207, p. 137–149, 2002.
- ANDRADE, C. L. et al. Nutrição e alimentação de tilápias do Nilo. **NutriTime**, v. 12, n. 6, p. 4464–4469, 2015.
- ARAMLI, M. S.; KAMANGAR, B.; NAZARI, R. M. Effects of dietary β -glucan on the growth and innate immune response of juvenile *Persian sturgeon*, *Acipenser persicus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 47, n. 1, p. 606–610, 2015.
- ARAUJO, M. T. **Cultivo intensivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* suplementado com microalga *Cglorella vulgaris* em sistema de bioflocos**. Pernambuco. 2008. 41 f.

Dissertação (Mestrado) - Curso de Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA (PEIXE BR). **Anuário 2022 Peixe BR da Piscicultura**. São Paulo: PeixeBr, 2022.

ATHAR, N. et al. Vitamin retention in extruded food products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 4, p. 379–383, 2006.

BAE, J.-Y. et al. Re-evaluation of the Optimum Dietary Vitamin C Requirement in Juvenile Eel, *Anguilla japonica* by Using L-ascorbyl-2-monophosphate. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 1, p. 98–103, 2011.

BAGNI, M. et al. Short- and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 18, n. 4, p. 311–325, 2005.

BARROSO, R. M. et al. **Gerenciamento genético da tilápia nos cultivos comerciais**. 1. ed. Palmas-TO: EMBRAPA, 2015.

BARROSO, R. M. et al. Regulamentação das espécies cultivadas. **Boletim Ativos da Aquicultura**, p. 1–8, 2016.

BARROWS, F. T. et al. The effect of vitamin premix in extruded plant-based and fish meal based diets on growth efficiency and health of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 283, n. 1–4, p. 148–155, 2008.

BONATO, M. **β -glucanas: Efeitos imunomoduladores & Controle da mortalidade**. 2019. Disponível em: <http://www.iccbrazil.com/%CE%B2-glucaas-efeitos-imunomoduladores-controle-da-mortalidade/>. Acesso em: 14 abr. 2022.

BORBA, M. R.; FRACALOSSO, D. M.; FREITAS, F. A. Efeito da suplementação de vitamina C na dieta sobre a susceptibilidade de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen*, ao *Ichthyophthirius multifiliis*. **Acta Sci. Anim. Sci.**, v. 29, n. 1, p. 93–99, 2007.

BOWYER, P. H. et al. Dietary nucleotides enhance growth performance, feed efficiency and intestinal functional topography in European Seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture Research**, v. 50, n. 7, p. 1921–1930, 2019.

BRANISTEANU, D. D.; MATHIEU, C.; BOUILLON, R. Synergism between sirolimus and 1,25-dihydroxyvitamin D 3 *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Neuroimmunology**, v. 79, p. 138–147, 1997.

BRITO, J. M. et al. Automação na tilapicultura: revisão de literatura. **NutriTime**, v. 14, n. 3, p. 5053–5062, 2017.

BURRELLS, C.; WILLIAMS, P. D.; FORNO, P. F. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 1. Effects on resistance to disease in salmonids. **Aquaculture**, v. 199, p. 159–169, 2001.

- CHAGAS, E. C. et al. Desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com β -glucano. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 899–905, 2013.
- CHEN, R. et al. Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). **Aquaculture**, v. 242, n. 1–4, p. 553–569, 2004.
- COLBY, S. R. Calculating Synergistic and Antagonistic Responses of Herbicide Combinations. **Weeds**, v. 15, n. 1, p. 20, jan. 1967.
- COMAS, Christiane Congro. **Manejo adequado reduz impactos do frio na piscicultura**. 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/22266210/manejo-adequado-reduz-impactos-do-frio-na-piscicultura>. Acesso em: 14 abr. 2022.
- CRAIG, S.; HELFRICH, L. Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding. **Virginia Cooperative Extension**, p. 420–426, 2017.
- CRUZ, F. G. G.; RUFINO, J. P. F. **Formulação e Fabricação de Rações (Aves, Suínos e Peixes)**. 1. ed. Manaus: EDUA, 2017.
- CYRINO, J. E. P. et al. A piscicultura e o ambiente-o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68–87, 2010.
- DA SILVA, L. R. et al. Antiparasitic effect of *Mentha × villosa* hydrolate against monogenean parasites of the Nile tilapia. **Ciencia Rural**, v. 51, n. 10, 2021.
- DAWOOD, M. A. O. et al. The role of β -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. **Aquaculture**, v. 523, p. 735205, 2020.
- DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S. Vitamin C supplementation to optimize growth, health and stress resistance in aquatic animals. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 2, p. 334–350, 2018.
- DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; ESTEBAN, M. Á. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 4, p. 950–974, 2018.
- DING, C.; HE, J. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 925–941, 2010.
- EL-MURR, A. ELHAKHEEM I. et al. Immune-protective, antioxidant and relative genes expression impacts of β -glucan against fipronil toxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 94, p. 427–433, 2019.
- EL-SAYED, A. M.; IZQUIERDO, M. The importance of vitamin E for farmed fish - A review. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 2, p. 688–703, 2022.

EL-SAYED, A.-F. M. Tilapia culture in salt water: environmental requirements, nutritional implications and economic potentials. In: SUÁREZ, C. E. et al. (Eds.). **Nutrición Acuícola VIII**. Monterrey: Avances en Nutrición Acuícola VIII, 2006. p. 95–10617.

EL-SAYED, A.-F. M.; KAWANNA, M. Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 6, p. 670–672, 2008.

FALCON, D. R. et al. Lipid and vitamin C in practical diets preparatory for winter for Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5 SUPPL., p. 1462–1472, 2007.

FAROOQI, F. S.; QURESHI, W. U. H. Immunostimulants for aquaculture health management. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 6, p. 1441–1447, 21 out. 2018.

FEGAN, D. F. Functional foods for aquaculture: benefits of NuPro® and dietary nucleotides in aquaculture feeds. In: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A.; HOWER, J. M. (Eds.). **Biotechnologia nutricional nas indústrias de rações e alimentos**. Stamford: Alltech UK, 2006. p. 419–432.

FERNANDES-JUNIOR, A. C. et al. Resposta hemática de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com colina e submetidas a estímulo por baixa temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1619–1625, 2010.

FERRAZ, E. G.; SILVEIRA, B. B. B. DE; SANTOS, J. N. DOS. Receptores Toll-Like: ativação e regulação da resposta imune. **Rev Gaúcha Ondotol.**, v. 59, n. 3, p. 483–490, 2011.

FILHO, D. W. Reactive oxygen species, antioxidants and fish mitochondria. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, p. 1229–1237, 2007.

FILHO, M. X. P. et al. **O mercado de peixes da piscicultura no Brasil: estudo do segmento de supermercados**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2020.

FLINT, J. L.; CORNELIUS, P. L.; BARRETT, M. Analyzing Herbicide Interactions: A Statistical Treatment of Colby's Method. **Weed Technology**, v. 2, n. 3, p. 304–309, 1988.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The state of world fisheries and aquaculture 2022**. Rome: FAO, 2022.

FURUYA, W. M. **Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias**. 1. ed. GFM, 2010.

FURUYA, W. M. et al. Nutrição de tilápias no Brasil. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 1, p. 19–34, 2012.

GALAZ, G. B.; KIM, S.-S.; LEE, K.-J. Effects of Different Dietary Vitamin E Levels on Growth Performance, Non-specific Immune Responses, and Disease Resistance against *Vibrio anguillarum* in Parrot Fish (*Oplegnathus fasciatus*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 7, p. 916–923, 2010.

GANNAM, A. L.; SCHROCK, R. M. Immunostimulants in Fish Diets. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 9, n. 4, p. 53–89, 1999.

- GAO, J. et al. Effect of dietary oxidized fish oil and vitamin C supplementation on growth performance and reduction of oxidative stress in Red Sea Bream *Pagrus major*. **Aquaculture Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 35–44, 2013.
- GATLIN III, D. M. Principles of Fish Nutrition. **Southern Regional Aquaculture Center**, n. 50003, p. 1–8, 2010.
- GIL, A. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 3, p. 1–4, 2002.
- GOBI, N. et al. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dab1 improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 74, p. 501–508, 2018.
- GONÇALVES, G. S. et al. Efeitos da Suplementação de Fitase sobre a Disponibilidade Aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em Alimentos Vegetais para a Tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2155–2163, 2005.
- GOODRIDGE, H. S.; WOLF, A. J.; UNDERHILL, D. M. β -glucan recognition by the innate immune system. **Immunological Reviews**, v. 230, n. 1, p. 38–50, 2009.
- GOPALAKANNAN, A.; ARUL, V. Enhancement of the innate immune system and disease-resistant activity in *Cyprinus carpio* by oral administration of β -glucan and whole cell yeast. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 6, p. 884–892, 2010.
- GOUDA, A. et al. Effect of dietary supplemental ascorbic acid and folic acid on the growth performance, redox status, and immune status of broiler chickens under heat stress. **Tropical Animal Health and Production**, v. 52, n. 6, p. 2987–2996, 2020.
- GUIMARÃES, I. G. et al. Effects of dietary levels of vitamin A on growth, hematology, immune response and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 188, p. 126–136, 2014.
- GURGUEL, J. J. S. Potencialidade do cultivo de tilápia no Brasil. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 1., 1998, Fortaleza. **Anais**. Fortaleza: CNPA, 1998. p. 345-352.
- HAGA, Y.; TAKEUCHI, T.; SEIKAI, T. Changes of retinoid contents in larval *Japanese flounder Paralichthys olivaceus* and *Artemia nauplii* enriched with a large dose of all-trans retinoic acid. **Fisheries Science**, v. 70, p. 436–444, 2004.
- HALVER, J. E. The vitamins. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Eds.). **Fish nutrition**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2002. p. 61–141.
- HALVER, J. E.; HARDY, R. W. **Fish nutrition**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2002. v. 4.
- HANSEN, A.-C.; WAAGBØ, R.; HEMRE, G.-I. New B vitamin recommendations in fish when fed plant-based diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 21, n. 5, p. 507–527, 2015.

HIXSON, S. M. Fish Nutrition and Current Issues in Aquaculture: The Balance in Providing Safe and Nutritious Seafood, in an Environmentally Sustainable Manner. **Journal of Aquaculture Research & Development**, v. 5, n. 03, p. 234, 2014.

HOSEINIFAR, S. H.; HOSEINI, S. M.; BAGHERI, D. Effects of galactooligosaccharide and *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defence and disease resistance of rainbow trout, *oncorhynchus mykiss*. **Annals of Animal Science**, v. 17, n. 1, p. 217–227, 1 jan. 2017.

HUANG, C.-H.; HUANG, S.-L. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*, fed oxidized oil. **Aquaculture**, v. 237, n. 1–4, p. 381–389, 2004.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2020. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>. Acesso em: 14 abr. 2022.

IZQUIERDO, M. S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A. G. J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v. 197, p. 25–42, 2001.

JI, L. et al. Effect of dietary β -glucan on growth, survival and regulation of immune processes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected by *Aeromonas salmonicida*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 64, p. 56–67, 2017.

JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ, E. et al. Molecular characterization and transcriptional regulation of the sodium-dependent vitamin C transporter genes (slc23a1 and slc23a2) in a teleost fish, the Senegalese sole (*Solea senegalensis*). **Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology**, v. 161, n. 3, p. 208–218, 2012.

JOBLING, M. Nutrient Partitioning and the Influence of Feed Composition on Body Composition. In: HOULIHAN, D.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. (Eds.). **Food Intake in Fish**. Blackwell Science Ltd, 2001. p. 354–375.

KHALIL, A. A.; ELHADY, M. Effects of echinacea purpurea and vitamin c on the health status, immune response and resistance of *Oreochromis niloticus* to *Aeromonas sobria* infection. **Abbassa Int. J. Aqua.**, v. 8, n. 2, p. 253–267, 2015.

KHARA, H.; SAYYADBORANI, M.; SAYYADBORANI, M. Effects of α -Tocopherol (vitamin E) and Ascorbic Acid (Vitamin C) and Their Combination on Growth, Survival and Some Haematological and Immunological Parameters of Caspian Brown Trout, *Salmo Trutta* Caspius juveniles. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 16, n. 2, p. 385–393, 2016.

KHASSAF, M. et al. Effect of Vitamin C Supplements on Antioxidant Defence and Stress Proteins in Human Lymphocytes and Skeletal Muscle. **The Journal of Physiology**, v. 549, n. 2, p. 645–652, 2003.

KIM, K.-W. et al. No synergistic effects by the dietary supplementation of ascorbic acid, α -tocopheryl acetate and selenium on the growth performance and challenge test of *Edwardsiella tarda* in fingerling Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 1053–1058, 2003.

KLEEMANN, G. K.. **Exigência nutricional de ferro da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus***. 2002. 45 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Bocatú, 2002.

KRAEMER, S. A.; RAMACHANDRAN, A.; PERRON, G. G. Antibiotic Pollution in the Environment: From Microbial Ecology to Public Policy. **Microorganisms**, v. 7, n. 6, p. 180, 22 jun. 2019.

KRUSE, N. D. et al. Sinergismo potencial entre herbicidas inibidores do fotossistema II e da síntese de carotenóides. **Ciência Rural**, v. 31, n. 4, p. 569–575, 2001.

KUBITZA, F. Nutrição e Alimentação de Tilápias-Parte 1 Tilápia: um produto internacional. **Panorama da Aquicultura**, p. 42–50, 1999.

KUBITZA, F. Atenção no manejo dos peixes na saída do inverno. **Panorama da Aquicultura**, p. 30–37, 2006.

KUBITZA, F.; CYRINO, J. E. P.; ONO, E. A. Rações comerciais para peixes no Brasil: situação atual e perspectivas. **Panorama da Aquicultura**, v. 8, n. 50, p. 37-49, 1998.

LALL, S. P.; KAUSHIK, S. J. Nutrition and Metabolism of Minerals in Fish. **Animals**, v. 11, n. 9, p. 2711, 2021.

LEHNINGER, A. LESTER. et al. **I principi di biochimica di Lehninger**. 7. ed. Zanichelli, 2018.

LI, P.; GATLIN, D. M. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. **Aquaculture**, v. 251, n. 2–4, p. 141–152, 2006.

LI, P.; ZHAO, J.; GATLIN III, D. M. Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health. In: CHENG-SHENG LEE et al. (Eds.). . **Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health**. 1. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015. p. 249–269.

LIANG, X.-P. et al. Effect of dietary vitamin C on the growth performance, antioxidant ability and innate immunity of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco* Richardson). **Aquaculture Research**, v. 48, n. 1, p. 149–160, 2017.

LIM, C. et al. Thiamin Requirement of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 42, n. 6, p. 824–833, 2011.

LIM, C.; WEBSTER, C. D. **Nutrition and fish health**. 1. ed. London: Food Products Press, an Imprint of The Haworth Press, Inc., 2001.

LIMA, C. S. DE; SILVEIRA, M. M.; TUESTA, G. M. R. Nutrição proteica para peixes. **Ciência Animal**, v. 25, n. 4, p. 27–34, 2015.

LITTLE, D. C.; NEWTON, R. W.; BEVERIDGE, M. C. M. Aquaculture: a rapidly growing and significant source of sustainable food? Status, transitions and potential. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, n. 3, p. 274–286, 2016.

- LOCHMANN, R. et al. Effects of Carbohydrate-Rich Alternative Feedstuffs on Growth, Survival, Body Composition, Hematology, and Nonspecific Immune Response of Black Pacu, *Colossoma macropomum*, and Red Pacu, *Piaractus brachypomus*. **Journal of the world aquaculture society**, v. 40, n. 1, 2009.
- LOVELL, T. Nonnutrient diet Components. In: LOVELL, T. (Ed.). . **Nutrition and Feeding of Fish**. Boston, MA: Springer US, 1998. p. 95–107.
- LOW, C. et al. Expression of immune genes in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed a nucleotide-supplemented diet. **Aquaculture**, v. 221, n. 1–4, p. 23–40, 2003.
- LU, D. L. et al. The comparisons in protective mechanisms and efficiencies among dietary α -lipoic acid, β -glucan and L-carnitine on Nile tilapia infected by *Aeromonas hydrophila*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 86, p. 785–793, 2019.
- MALDONADO, J. et al. The influence of dietary nucleotides on humoral and cell immunity in the neonate and lactating infant. **Early Human Development**, v. 65, p. 69–74, 2001.
- MARTINS, M. L. et al. Ração suplementada com vitaminas C e E influencia a resposta inflamatória aguda em tilápia do Nilo. **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 213–218, 2008.
- MARTINS, T. P. A. et al. Vitamin C supplementation on growth performance and gonadal development in Nile tilapia. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 38, n. 4, p. 477–481, 2016.
- MAZURAS, D. et al. Optimal levels of dietary vitamin A for reduced deformity incidence during development of European sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) depend on malformation type. **Aquaculture**, v. 294, n. 3–4, p. 262–270, 2009.
- McDowell, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 2003. 644 p.
- MEHRAD, B.; SUDAGAR, M. Dietary vitamin E requirement, fish performance and reproduction of guppy (*Poecilia reticulata*). **International Journal of the Bioflux Society**, v. 3, n. 3, p. 239–246, 2010.
- MERINO, G. et al. Can marine fisheries and aquaculture meet fish demand from a growing human population in a changing climate? **Global Environmental Change**, v. 22, n. 4, p. 795–806, 2012.
- MIAO, S. et al. Effects of dietary *Pediococcus acidilactici* GY2 single or combined with *Saccharomyces cerevisiae* or/and β -glucan on the growth, innate immunity response and disease resistance of *Macrobrachium rosenbergii*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 98, p. 68–76, 2020.
- MING, J. et al. Effects of emodin and vitamin C on growth performance, biochemical parameters and two HSP70s mRNA expression of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) under high temperature stress. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 32, n. 5, p. 651–661, 2012.
- MISRA, C. K. et al. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. **Aquaculture**, v. 255, n. 1–4, p. 82–94, 2006.

- MORAES, P. M.; LOUREIRO, V. R.; PADILHA, P. M. Determinação De fósforo biodisponível em rações De peixes utilizando extração assistida por ultra-som e espectrofotometria no visível. **Quim. Nova**, v. 32, n. 4, p. 923–927, 2009.
- MULOKOZI, D. P. et al. Rural aquaculture: Assessment of its contribution to household income and farmers' perception in selected districts, Tanzania. **Aquaculture Economics & Management**, v. 24, n. 4, p. 387–405, 2020.
- NAVARRETE, P.; TOVAR-RAMREZ, D. Use of Yeasts as Probiotics in Fish Aquaculture. In: **Sustainable Aquaculture Techniques**. InTech, 2014. p. 136–172.
- NAVARRO, R. D. **Suplementação de vitaminas E e C para tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.
- NAVARRO, R. D. et al. A importância das vitaminas E, C e A na reprodução de peixes: revisão de literatura. **Rev Bras Repro Anim**, n. 1, p. 20–25, 2009.
- NAYAK, S. K.; SWAIN, P.; MUKHERJEE, S. C. Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 23, n. 4, p. 892–896, 2007.
- NEU, D. H. et al. Suplementação de vitamina C na dieta para larvas de mandi-pintado *Pimelodus britskii*. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 4, p. 242–246, 2010.
- NOBREGA, R. O. et al. Improving winter production of Nile tilapia: What can be done? **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100453, 2020.
- NORSE, E. A. et al. Sustainability of deep-sea fisheries. **Marine Policy**, v. 36, n. 2, p. 307–320, 2012.
- NRC. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. 2. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 2011.
- NUTRON CARGILL. **Acquacultura**. 2016. Disponível em: <http://nutron.com.br/solucoes/solucoes-peixes/>. Acesso em: 16 abri. 2022.
- PALACE, V. P.; WERNER, J. Vitamins A and E in the maternal diet influence egg quality and early life stage development in fish: a review. **Scientia Marina**, p. 41–57, 2006.
- PAN, H. et al. Inhibited fatty acid β -oxidation impairs stress resistance ability in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 68, p. 500–508, 2017.
- PAULSEN, S. M.; ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, B. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast β -glucan and bacterial lipopolysaccharide. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 11, n. 1, p. 23–37, 2001.
- PENG, S. et al. Effects of dietary vitamin E supplementation on growth performance, lipid peroxidation and tissue fatty acid composition of black sea bream (*Acanthopagrus schlegeli*) fed oxidized fish oil. **Aquaculture Nutrition**, v. 15, n. 3, p. 329–337, 2009.

PENNEY, J. et al. Pure yeast beta-glucan and two types of yeast cell wall extracts enhance cell migration in porcine intestine model. **Journal of Functional Foods**, v. 59, p. 129–137, 2019.

PEREIRA, A. C.; SILVA, R. F. **Produção de tilápias**. Rio de Janeiro: Rio Rural, 2012.

PILARSKI, F. et al. Different β -glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 70, p. 25–29, 2017.

PINTO, L. G. Q. **Exigências dietárias e disponibilidade de fontes de fósforo para tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2008. 82 f. Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Bocatú, 2008.

POHLENZ, C.; GATLIN, D. M. Interrelationships between fish nutrition and health. **Aquaculture**, v. 431, p. 111–117, 2014.

PRABU, E. et al. Effect of Dietary Supplementation of Biofloc Meal with Tryptophan on Growth and Survival of GIFT Tilapia. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 8, p. 3426–3434, 2017.

PRABU, E. et al. Tilapia – An Excellent Candidate Species for World Aquaculture: A Review. **Annual Research & Review in Biology**, p. 1–14, 2019.

PRABU, E.; SANTHIYA, A. A. V. An overview of bioremediation towards aquaculture. **J. Aqua. Trop.**, v. 31, n. 3–4, p. 155–164, 2016.

PRIYADARSANI, L. et al. Effects of dietary supplementation of vitamin-E and commercial probiotics on the innate immunity of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* infection. **Fish and Shellfish Immunology Reports**, v. 2, p. 100013, 2021.

RADI, A. M. et al. The effects of abamectin on oxidative stress and gene expression in rat liver and brain tissues: Modulation by sesame oil and ascorbic acid. **Science of The Total Environment**, v. 701, p. 134882, 2020.

RASHIDIAN, G. et al. Extract of common mallow (*Malvae sylvestris*) enhances growth, immunity, and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings against *Yersinia ruckeri* infection. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 96, p. 254–261, 2020.

REDA, R. M. et al. Effect of dietary yeast nucleotide on antioxidant activity, non-specific immunity, intestinal cytokines, and disease resistance in Nile Tilapia. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 80, p. 281–290, 2018.

RIBEIRO, P. A. P. et al. **Manejo nutricional e alimentar de peixes de água doce**. Belo Horizonte: UFMG, 2012.

RINGØ, E. et al. Use of Immunostimulants and Nucleotides in Aquaculture: A Review. **Journal of Marine Science: Research & Development**, v. 02, n. 01, 2012.

RINGØ, E. et al. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never ending story? **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 2, p. 219–282, 2016.

ROSSI, P.; XAVIER, E.; RUTZ, F. Nucleotídeos na nutrição animal Alternative feed additives to colistin in swine production View project. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 1, p. 5–12, 2007.

ROTTA, M. A. **Utilização do Ácido Ascórbico (Vitamina C) pelos Peixes**. 1. ed. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003.

SÁ, L. S. **Complexo imunoestimulante e premix vitamínico-mineral promovem melhor crescimento em juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) Florianópolis 2020**. Dissertação-Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2020.

SADO, R. Y.; GIMBO, R. Y.; SALLES, F. B. Routes of β -glucan administration affect hematological and immune responses of *Oreochromis niloticus*. **Archivos de Zootecnia**, v. 65, n. 252, p. 519–524, 2016.

SAHA, D. et al. Effects of different levels of vitamin C and prolonged nursing on growth and innate immunity of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **AAFL Bioflux**, v. 10, n. 4, p. 710–720, 2010.

SAKAI, M. Current research status of fish immunostimulants. **Aquaculture**, n. 172, p. 63–92, 1999.

SALARO, A. L. et al. Suplementação de vitamina C em dietas para juvenis de trairão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 1096–1102, 2013.

SANCHEZ, M. S. S. et al. Complexo mineral e vitamínico em dietas para alevinos de tilápia-do-nilo. **Boletim de Indústria Animal**, v. 74, n. 3, p. 148–155, 2017.

SANTIAGO, C. B.; LOVELL, R. T. Amino acids requirements for growth of Nile tilapia. **Journal of Nutrition**, v. 118, n. 12, p. 1540–1546, 1988.

SANTOS, E. L. et al. Considerações sobre o manejo nutricional e alimentar de peixes carnívoros. **NutriTime**, v. 10, n. 1, p. 2216–2255, 2013.

SAU, S. K. et al. Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. **Aquaculture**, v. 240, n. 1–4, p. 359–368, 2004.

SCHALLER, J. P.; BUCK, R. H.; RUEDA, R. Ribonucleotides: Conditionally essential nutrients shown to enhance immune function and reduce diarrheal disease in infants. **Science Direct**, v. 12, n. 1, p. 35–44, 2007.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA-FILHO, J. E. R. **Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Ipea, 2017.

SELIM, K. M.; REDA, R. M. Beta-Glucans and Mannan Oligosaccharides Enhance Growth and Immunity in Nile Tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v. 77, n. 1, p. 22–30, 2015.

SHIAU, S.-Y.; HSU, C.-Y. Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, n. 210, p. 335–342, 2002.

SHIAU, S.-Y.; LIN, Y.-H. Vitamin Requirements of Tilapia - A Review. In: SUÁREZ, L. E. C. et al. (Eds.). **Avances en Nutrición Acuícola VIII**. Monterrey: Universidad Autónoma de Nuevo León, 2006. p. 129–138.

SHIAU, S.-Y.; SU, S.-L. Juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) requires dietary myo-inositol for maximal growth. **Aquaculture**, v. 243, n. 1–4, p. 273–277, 2005.

SIDDIQUI, A. Q. et al. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture Research**, v. 29, p. 349–358, 1998.

SILVA, L. C. R. et al. Níveis de teonina em rações para tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1258–1264, 2006.

SIQUEIRA, T. V. Aquicultura: a nova fronteira para aumentar a produção mundial de alimentos de forma sustentável. **Boletim regional, urbano e ambiental**, v. 17, p. 53–60, 2017.

SMITH, E. A. et al. Surface Plasmon Resonance Imaging Studies of Protein-Carbohydrate Interactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 20, p. 6140–6148, 2003.

SONG, S. K. et al. Probiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 40, n. 1, p. 40–48, 2014.

SOUZA, N. E. DE et al. Composição química, perfil de ácidos graxos e quantificação dos ácidos α -linolênico, eicosapentaenóico e docosahexaenóico em vísceras de tilápias (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Technology**, v. 27, n. 1, p. 73–76, 2005.

STOCK-RAISING SHIJIAZHUANG ZDHF. **ZDHF PHARM**: products. 2019. Disponível em: http://www.zdhfvet.com/powder_premix/list-2.html. Acesso em: 16 abri. 2022.

SUSSEL, F. R. **Tilapicultura no Brasil e entraves na produção**. São Paulo.

TIDWELL, J. H.; ALLAN, G. L. Fish as food: aquaculture's contribution. **EMBO reports**, v. 2, n. 111, p. 958–963, 2001.

TORRES, M. et al. Aspectos Farmacológicos relevantes de las Vitaminas Antioxidantes (E, A y C). **Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica**, v. 21, n. 1, p. 22–27, 2002.

TORT, L. Stress and immune modulation in fish. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 35, n. 12, p. 1366–1375, 2011.

TRICHET, V. V et al. The effect of vitamin C on urinary excretion. In: LEE, C. S. et al. (Eds.). **Dietary nutrients, additives, and fish health**. Haboken: John Wiley & Sons, LTD, 2015. p. 151–171.

TZIANABOS, A. O. Polysaccharide Immunomodulators as Therapeutic Agents: Structural Aspects and Biologic Function. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 4, p. 523–533, 2000.

VÉLEZ-ALAVEZ, M. et al. Vitamins C and E concentrations in muscle of elasmobranch and teleost fishes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 170, p. 26–30, 2014.

- VISMARA, R. et al. Natural vitamin E enrichment of *Artemia salina* fed freshwater and marine microalgae. **Journal of applied phycology**, v. 15, p. 75–80, 2003.
- WANG, A. et al. Use of probiotics in aquaculture of China—a review of the past decade. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 86, p. 734–755, 2019.
- WASSER, S. P.; WEIS, A. L. Therapeutic Effects of Substances Occurring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: A Modern Perspective. **Critical Reviews™ in Immunology**, v. 19, n. 1, p. 32, 1999.
- WATTS, J. et al. The Rising Tide of Antimicrobial Resistance in Aquaculture: Sources, Sinks and Solutions. **Marine Drugs**, v. 15, n. 6, p. 158, 2017.
- WISMAR, R. et al. Dietary fibers as immunoregulatory compounds in health and disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1190, n. 1, p. 70–85, 2010.
- XU, L. et al. Effects of dietary yeast nucleotides on growth, non-specific immunity, intestine growth and intestinal microbiota of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* ♀ × *Oreochromis aureus* ♂. **Animal Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 244–251, 1 set. 2015.
- YAMAMOTO, F. Y. et al. β -1,3 glucan derived from *Euglena gracilis* and Algamune™ enhances innate immune responses of red drum (*Sciaenops ocellatus* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 77, p. 273–279, 2018.
- YAMAMOTO, F. Y. et al. Synergistic effects of the β -1,3 glucan paramylon and vitamin C on immunological responses of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) were pronounced *in vitro* but more moderate *in vivo*. **Aquaculture**, v. 526, p. 735394, 2020.
- ZADINELO, I. V. et al. Avaliação de rações comerciais para a tilápia do Nilo durante o período de outono/inverno. **NutriTime**, v. 17, n. 3, p. 8717–8721, 2020.
- ZAKI, M. A. A. et al. The impact of stocking density and dietary carbon sources on the growth, oxidative status and stress markers of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under biofloc conditions. **Aquaculture Reports**, v. 16, p. 100282, 2020.
- ZANOLO, B.; YAMAMURA, H. Parasitas em tilápias-do-nilo criadas em sistema de tanques-rede. **Ciências agrárias**, v. 27, n. 2, p. 281–288, 2006.
- ZERAI, D. B.; FITZSIMMONS, K. M.; COLLIER, R. J. Transcriptional Response of Delta-9-Desaturase Gene to Acute and Chronic Cold Stress in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, n. 5, p. 800–806, 2010.