

FREDERICO WERNECK LIMA

COLONIZAÇÃO E MORFOMETRIA INTESTINAL DE LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO *Astyanax altiparanae* ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae* COMO PROBIÓTICO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da
Biblioteca Central da UFV

T

L732c
2014

Lima, Frederico Werneck, 1981-
Colonização e morfometria intestinal de lambaris-do-rabo-amarelo
Astyanax altiparanae alimentados com dietas contendo levedura
Saccharomyces cerevisiae como probiótico / Frederico Werneck Lima. -
Viçosa, MG, 2014.
xv, 51f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.
Inclui apêndice.
Orientador: Ana Lúcia Salaro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Peixe - Alimentação e Rações. 2. Lambari. 3. *Astyanax altiparanae*. 4. Peixes - Aparelho digestivo. 5. Intestino. 6. Probiótico. 7. *Saccharomyces cerevisiae*. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-graduação em Biologia Animal. II. Título.

CDD 22. ed. 639.3

FREDERICO WERNECK LIMA

COLONIZAÇÃO E MORFOMETRIA INTESTINAL DE LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO *Astyanax altiparanae* ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae* COMO PROBIÓTICO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de março de 2014.

Valéria Rossetto Barriviera Furuya

Sérgio Luis Pinto da Matta

Ana Lúcia Salaro
(Orientadora)

“Cada átomo em seu corpo veio de uma estrela que explodiu. E os átomos em sua mão esquerda, provavelmente vieram de uma estrela diferente que os da sua mão direita. É realmente uma coisa poética o que sei sobre física: você é feito de poeira estelar.”

(Lawrence Krauss)

Dedico aos meus pais

José Antônio de Oliveira Lima e Nilcéa Werneck Lima.

Exemplos de vida, luta, honestidade, dignidade e que nunca mediram esforços para minha formação. Agradeço por cada lição e ensinamento que recebi desde o princípio de minha vida e por tudo o que aprenderei até o fim dela. Se hoje estou aqui, foi graças a vocês. Obrigado simplesmente por tudo.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Professora Ana Lúcia Salaro,

Que com seu conhecimento despertou em mim, ainda na graduação, o interesse e paixão pelos peixes que me trouxeram até aqui. Exemplo no qual me inspiro, de mestre raro, que ultrapassa os limites das salas de aula, não apenas com lições acadêmicas, mas também com lições de vida e amizade. Agradeço por todas as orientações profissionais, por todo apoio, incentivo e persistência durante essa importante fase, pela amizade de sempre e pela confiança. Agradeço a você por essa conquista e por tantas outras futuras.

*E à espetacular **equipe** de professores e alunos do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV-MG), orientada por nossa competente Prof^ª. Dr^ª Ana Lúcia Salaro.*

*Ao Professor Doutor Jener Alexandre Sampaio Zuanon; aos Mestres em Biologia Animal **Daniel Abreu Vasconcelos Campelo; Luiz Thiago Versiani Miranda; Marcelo Duarte Pontes**; aos pós-graduandos do programa de mestrado em Biologia Animal (DBA/UFV), **Márcio Yoshiyuki Kanashiro, Alfredo Rubén Palomino Ramos, Uyara Duarte Vieira, Isabel Gertrudes Arrigui de Araújo Neves, Renato Barbosa Ferraz, Sedy Moreira Reis e Magnus Augusto Coutinho Cossi**; à Zootecnista, **Kátia Rodrigues Batista de Oliveira**; ao Zootecnista **José Carlos de Oliveira Junior**; e aos bolsistas e estagiários do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal, **Willian Chaves, Raully Lucas Silva, José Francisco Luciano, Cristiana Leonor da Silva Carneiro, André Luis Fialho Ladeira e Victor Vicentin Bentes**. Agradeço por toda ajuda prestada, todos os conhecimentos compartilhados, o companheirismo e a colaboração durante todo este período de convivência.*

Externo o meu orgulho em ter feito parte dessa equipe tão bem composta e bem orientada.

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal de Viçosa**, pela estrutura e oportunidade para realização da minha Pós-Graduação em Biologia Animal, possibilitando a conquista do meu título de Mestre;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-**CNPq** pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa e pela concessão de bolsas de Iniciação Científica aos estudantes;

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (**Reuni**) pela concessão da bolsa de estudo;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**Capes**) pelo fomento da bolsa de estudo;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – **FAPEMIG** pela concessão de bolsas de Iniciação Científica e auxílio financeiro para participação e apresentação trabalhos em congresso;

À **Profª. Drª Ana Lúcia Salaro** pela orientação, disposição e profissionalismo dedicados ao meu mestrado;

Ao **Prof. Dr. Jener Alexandre Sampaio Zuanon** pela coorientação e toda informação compartilhada ao longo desse período;

Ao **Prof. Dr. Luís Gustavo Tavares Braga** pela coorientação e disponibilidade mesmo a distância;

Ao **Prof. Dr. Antônio Policarpo Souza Carneiro** pela orientação nas análises estatísticas do meu projeto e por mostrar-se sempre disposto a me ajudar, a qualquer momento;

Ao **Prof. Dr. Sérgio Luis Pinto da Matta** por toda atenção e presteza não somente ao disponibilizar o Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV, mas também por compartilhar seu conhecimento no processo

de confecção do material histológico para a realização do presente trabalho. Da mesma forma foram à sua equipe e seus alunos, pelas orientações sobre a utilização do laboratório;

Ao **Prof. Dr. Jorge Abdala Dergam dos Santos** por toda atenção e por disponibilizar o Laboratório de Sistemática Molecular – Beagle, do Departamento de Biologia Animal da UFV para a realização das microfotografias dos cortes histológicos deste trabalho, assim como a atenção e auxílio de sua equipe e seus alunos, sempre prestativos;

Aos **Professores membros da banca examinadora, Ana Lúcia Salaro, Valéria Rossetto Barriviera Furuya e Sérgio Luis Pinto da Matta** pela disponibilidade e contribuições para o enriquecimento deste trabalho;

A **todos os professores** que de certa forma contribuíram para minha formação durante o período que permaneci na Universidade Federal de Viçosa;

Ao **Sr Marcos Lesaffre** (SAF), pelo envio do produto BIOSAF HR e a professora **Dra. Kátia Kalko Schwarz** (Universidade Estadual do Paraná), que nos intermediou com o senhor Marcos para a aquisição da levedura *Saccharomyces cerevisiae*;

Aos funcionários e ex-funcionários do Setor de Piscicultura da UFV, **Paulo Soares Bernardo, João Antônio de Oliveira e José Francisco Delfino** pelos auxílios e pela ajuda prestada durante todos os anos de estágio, por todos os ensinamentos, pelo companheirismo durante os manejos de rotina do setor, pelas várias despesas, enfim pela grande ajuda de sempre;

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal **Adnílson Brasileiro**, pela ajuda e pelos vários esclarecimentos durante minha formação;

Aos funcionários do Departamento de Biologia Animal **Helvécio de Freitas, Geraldo Pereira Filho e Emília Wakim de Almeida Costa**, funcionários do laboratório de zoologia, por toda ajuda prestada;

Aos funcionários da Secretaria do Departamento de Biologia Animal **Nilo Souza e Lúcia Helena Campos**, por mostrarem-se sempre dispostos a ajudar;

Aos meus pais, **José Antônio de Oliveira Lima** e **Nilcéa Werneck Lima**, e aos meus irmãos **Rafael Werneck Lima** e **Ana Paula Werneck Lima**, por todo amor, confiança e apoio durante toda a minha vida, que sempre me serviram de apoio e exemplo, que sempre me fizeram melhorar. E ao meu cunhado **Marco Antônio Balbi e Silva** que sempre se mostrou disposto e solícito ao que fosse necessário;

Agradeço também aos **meus parentes**, e em especial aos muitos **primos**, os quais além de parentes também são amigos e companheiros, que sempre torceram por mim e me ajudaram em tudo que precisei;

Queria agradecer muito a **Aline Pereira David**, pelo companheirismo, cuidado, dedicação, amor e carinho doados incondicionalmente sem a espera de retribuição. Agradeço a toda ajuda que recebi em tudo que precisei. Obrigado pela calma, paciência e por me ajudar de perto ou de longe, me fazendo muito feliz;

Aos companheiros da república **João Paulo Ferreira**, **Aldemiro Gomes Pio**, e **Leandro Diego da Silva** pelo companheirismo e à amiga **Carlota Coelho Barroca**, que sempre me apoiou quando eu precisei.

Quero agradecer a todos que de alguma maneira contribuíram para que este projeto fosse realizado.

BIOGRAFIA

Frederico Werneck Lima, filho de José Antônio de Oliveira Lima e Nilcéa Werneck Lima, nasceu em 03 de setembro de 1981 na cidade de Volta Redonda, RJ.

Graduou-se em Zootecnia, em janeiro de 2011 pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, MG.

Ingressou no programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, em nível de Mestrado, em março de 2012, pelo Departamento de Biologia Animal na Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa MG, defendendo a dissertação em 28 de março de 2014.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
INTRODUÇÃO GERAL	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	2
Probióticos.....	2
Levedura do álcool, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , em dietas para peixes	5
Tubo digestório de peixes.....	8
Células caliciformes	12
Túnica muscular.....	12
Microbiota intestinal.....	13
Lambari-do-rabo-amarelo <i>Astyanax altiparanae</i>	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
CAPÍTULO I	29
RESUMO	30
ABSTRACT	31
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS	34
Peixes e delineamento experimental	34
Dietas-teste	35
Avaliação histomorfométrica do intestino dos peixes	37
Análises microbiológicas do tubo digestório	39
Análises estatísticas	39
RESULTADOS	41
DISCUSSÃO	43
CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
APENDICE	50
ANEXO	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotomicrografias do epitélio intestinal de lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). AV (altura de vilosidade); TM1 e TM2 (túnica muscular); LVb (largura da base da vilosidade); LVm (largura média da vilosidade); LVa (largura do ápice da vilosidade); CC (células caliciformes – mostradas pelas setas). Coloração: azul de toluidina-borato de sódio 1%. Obj. 10x, zoom 1x. 38

Figura 2: Efeito linear crescente para o parâmetro área de superfície aparente das vilosidades (altura de vilosidade x largura média de vilosidade) em função dos níveis de inclusão de levedura nas dietas-teste ($p < 0,10$). 42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ingredientes, Formulação (g kg^{-1}) e composição química (base matéria natural) das dietas-teste utilizadas na alimentação de Lambaris-do-rabo amarelo *Astyanax altiparanae* para os diferentes níveis de inclusão da levedura *Saccharomyces cerevisiae*..... **36**

Tabela 2 Número de unidades formadoras de colônias (UFCs) da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) nas dietas-teste kg^{-1} de dieta. **36**

Tabela 3 Médias das alturas de vilosidade, espessura da túnica muscular, largura média da vilosidade, número de células calciformes por vilosidade e área de superfície aparente das vilosidades, do intestino juvenis de lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae* alimentados com diferentes níveis de inclusão da levedura *Saccharomyces cerevisiae*..... **41**

RESUMO

LIMA, Frederico Werneck, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2014. **Colonização e morfometria intestinal de lambaris-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae* alimentados com dietas contendo levedura *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico.** Orientadora: Ana Lúcia Salaro. Coorientadores: Jener Alexandre Sampaio Zuanon e Luís Gustavo Tavares Braga.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* vem sendo utilizada como pré ou probiótico em dietas para diversas espécies de animais. A melhoria do sistema imune inespecífico e aumento na resistência dos animais contra infecções bacterianas são efeitos observados em peixes alimentados com dietas contendo esta levedura. Essa levedura também pode desempenhar papel modulador na microbiota intestinal dos animais, colonizando o intestino dos peixes e influenciando diretamente a morfologia e histologia do tubo digestório, podendo alterar vilosidades, número de células caliciformes e espessura da túnica muscular. A mucosa e as vilosidades intestinais estão diretamente relacionadas com a absorção de nutrientes pelo intestino, portanto apresentam papel fundamental no crescimento e na saúde dos animais. O conhecimento da morfologia e histologia do tubo digestório dos peixes poderá ajudar a elucidar o efeito de diferentes ingredientes que compõem as dietas desses animais sobre seu crescimento. Esse conhecimento também irá fomentar as indústrias de rações, no intuito da formulação e fabricação de dietas que possam melhorar a digestão e absorção dos nutrientes pelos animais. O lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae* é cultivado em várias regiões brasileiras, é uma espécie onívora e com excelente aceitação pelo mercado consumidor. Assim, com o presente estudo objetivou-se avaliar o efeito da levedura *S. cerevisiae* sobre a colonização e a histomorfometria intestinal de *A. altiparanae*. Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa CEUAP/UFV, como parte do processo nº 22/2013, estando de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e com a legislação vigente. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com seis níveis de levedura *S. cerevisiae* (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0g kg⁻¹ de dieta) e cinco repetições. Lambaris-do-rabo-amarelo (1,89±0.10g) foram alimentados durante 90 dias com as dietas-teste. Ao final do período experimental, sete peixes por repetição (35 por tratamento), foram coletados

aleatoriamente e eutanasiados com óleo de cravo (400mg L^{-1} de água) para a extração do intestino. Foram realizadas análises de colonização intestinal, altura e largura das vilosidades intestinais, número de células caliciformes por vilosidade intestinal, espessura da túnica muscular e área de superfície aparente das vilosidades. A área de superfície aparente das vilosidades foi calculada pela multiplicação das medidas da altura e largura das vilosidades. Os dados obtidos foram submetidos ao Teste de Cochran para verificar a homogeneidade de variância e em seguida realizada a análise de variância (ANOVA), ($P < 0,10$) e para os efeitos significativos, análise de regressão polinomial. Para a análise microbiológica de colonização pela levedura *S. cerevisiae* no intestino dos peixes, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($P < 0,10$). Foi observado efeito linear crescente apenas na área de superfície aparente das vilosidades intestinais. A inoculação de meios de cultura com amostras dos intestinos confirmaram a colonização pelas leveduras nos tratamentos que continham *S. cerevisiae*. Devido a presença da levedura no intestino dos peixes e das vilosidades intestinais estarem diretamente envolvidas com a absorção de nutrientes pelo intestino, conclui-se que a levedura atuou de forma benéfica nos lambaris-do-rabo-amarelo.

ABSTRACT

LIMA, Frederico Werneck, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2014. **Colonization and intestinal morphology of the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* fed with diets containing yeast *Saccharomyces cerevisiae* as probiotics.** Adviser: Ana Lúcia Salaro. Co-advisers: Jener Alexandre Sampaio Zuanon and Luís Gustavo Tavares Braga.

The yeast *Saccharomyces cerevisiae* has been used as pre-or probiotic in diets for many different species of animals. The improvement of the nonspecific immune system and an increase in the resistance of animals against bacterial infections are effects observed in fishes fed with diets containing this yeast. This yeast can also play a modulating role in the intestinal microbiota of animals, colonizing fish intestine and directly influencing morphology and histology of the digestive tract, altering villi, number of goblet cells and thickness of the muscular layer. The mucosa and intestinal villi are directly related to the absorption of nutrients by the intestine, thus presenting a fundamental role in growth and health of the animals. The knowledge on the morphology and histology of the digestive tract of fish may help to elucidate the effect of various diets ingredients on the growth of these animals. This knowledge will also guide feed industries, in the aim of the formulation and manufacture of diets that may improve digestion and absorption of nutrients by the animals. The yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*, which is cultured in several Brazilian regions, is an omnivorous species and has an excellent consumer market acceptance. Thus, the present study aimed to evaluate the effect of the yeast *S. cerevisiae* on colonization and intestinal histomorphometry of *A. altiparanae*. This project was approved by the Ethics Committee on Production Animals Use, of the Federal University of Viçosa CEUAP / UFV, as part of Case No. 22/2013, which is consistent with the ethical principles of animal experimentation established by the National Board of Animal Experimentation Control - CONCEA and with the current legislation. A completely randomized design with six levels of the yeast *S. cerevisiae* (0.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 and 25.0 g kg⁻¹ diet) and five replications was used. The *A. altiparanae* (1.89 ± 0.10g) were fed for 90 days with the test diets. At the end of the experimental period, seven fish per replicate (35 per treatment) were randomly collected and euthanized with clove oil (400mg L⁻¹ of water) for the extraction of the intestine. Analysis of colonization, height and width of intestinal villi, number of goblet cells per

intestinal villi, muscularis thickness and apparent surface area of the villi were performed. The apparent surface area of the villi was calculated by multiplying the measurements of height and width of the villi. The data obtained were subjected to Cochran test to check homogeneity of variance, and later the analysis of variance (ANOVA) ($P < 0.10$) and polynomial regression analysis for the significant effects were performed. For microbiological analysis of colonization by *S. cerevisiae* in fish intestine, the nonparametric ($P < 0.10$) Kruskal-Wallis test was performed. An increasing linear effect was observed only in the apparent intestinal villi surface area. The inoculation of culture media with intestinal samples confirmed the colonization by yeasts in treatments containing *S. cerevisiae*. Because the presence of the yeast in fish intestine and intestinal villi is directly involved with the absorption of nutrients in the intestine, it is concluded that the yeast acted beneficially in yellowtail tetra.

INTRODUÇÃO GERAL

A levedura do álcool, *Saccharomyces cerevisiae*, pode ser classificada como probiótico pela possibilidade de colonização do epitélio intestinal (Meurer et al., 2007) e pela atuação benéfica à saúde dos animais (Sakai et al., 2001; Ortuño et al., 2002; Li & Gatlin, 2003, 2004a). Outra importante função da levedura como probiótico, é melhorar o sistema imune inespecífico e a resistência dos peixes a infecções bacterianas (Abdel-Tawwab et al., 2008). A possibilidade de interações entre a parede celular dessa levedura com o intestino dos peixes pode levar a alterações na histomorfometria intestinal (Schwarz et al., 2011), o que influenciará diretamente na absorção de nutrientes e conseqüentemente no crescimento e na saúde dos animais (Lara-Flores et al., 2003).

O intestino é um dos órgãos de maior importância na nutrição animal, pois nele ocorrem os principais processos de digestão e absorção dos nutrientes da dieta (Horn, 1997). As vilosidades ou vilos intestinais são evaginações da mucosa intestinal, que aumentam a área, a eficiência e a capacidade absorptiva do intestino (Junqueira & Carneiro, 2013). As células caliciformes são especializadas na produção de muco, o qual tem função de proteção mecânica, química e biológica (Junqueira & Carneiro, 2013). A musculatura intestinal, caracterizada pela túnica muscular transversal e longitudinal, promove as contrações e os movimentos peristálticos do intestino, responsáveis por impulsionar o bolo alimentar e fecal (Junqueira & Carneiro, 2012; Shiraishi et al., 2009). As vilosidades do intestino são estruturas que podem sofrer alterações em sua morfologia e histologia em função dos ingredientes que compõem a dieta (Schwarz et al., 2011). Dessa maneira, alterações no intestino dos animais poderão

refletir na melhoria ou não da absorção intestinal e assim, no desempenho e saúde dos mesmos.

O conhecimento da ação da levedura do álcool e da histomormetria do tubo digestório dos animais é de fundamental importância para a elucidação do efeito deste probiótico na nutrição dos animais, especialmente em peixes.

O lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax altiparanae*, é um peixe encontrado em grande parte do território nacional (Cotan et al., 2006) e vem se destacando na piscicultura de corte em função da aceitação de dietas comerciais e reprodução em cativeiro (Vilela & Hayashi, 2001). Assim, com esse estudo objetivou-se avaliar o efeito da levedura *S. cerevisiae* sobre a colonização e a histomorfometria intestinal de lambaris-do-rabo-amarelo *A. altiparanae*.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Probióticos

Lilly & Stillwell (1965) utilizaram pela primeira vez a palavra probiótico em oposição à palavra “antibiótico” para denominar uma substância secretada por um protozoário que causou o crescimento de outros (Rusch, 2002). A palavra “probiótico” é composta por um prefixo latino que significa “a favor” e um sufixo grego que significa “vida”, resultando em um significado composto, podendo ser definido como “pró-vida” ou substância que atua a favor da vida dos hospedeiros (Zivkovic, 1999; Coppola & Gil Turnes, 2004). A definição de probióticos, desde então, foi modificada e aperfeiçoada por vários autores (Parker, 1974; Fuller, 1989; Gatesoupe et al., 1999) e em 2001 a FAO/OMS passou a utilizar a definição de Schrezenmeir & Vrese (2001), que sugeriram que o termo probiótico deve ser usado para descrever produtos que

contenham microrganismos vivos específicos, em quantidade adequada para promover a alteração da microbiota de um hospedeiro, por implantação ou colonização.

Verschuere et al. (2000) definiram os probióticos de maneira mais abrangente, considerando a íntima relação entre os organismos aquáticos e o ambiente. Para esses autores, probiótico é: "vida microbiana adjunta que tem efeito benéfico na associação, modificando a comunidade microbiana associada ou ambiente, garantindo a melhor utilização do alimento para os animais ou reforçando o seu valor nutritivo, através do reforço da resposta à doença, ou através da melhoria da qualidade do seu meio ambiente". A definição de probióticos como "microorganismos vivos que quando adicionados à dieta podem contribuir para o crescimento e a resposta imune dos organismos", foi proposta por Kesarcodi-Watson et al. (2008).

Segundo considerações de Balcázar et al. (2006), para que o probiótico seja considerado eficaz e seguro, como aditivo na saúde animal e humana, deve apresentar as seguintes características: não ser tóxico e não ser patogênico; ser habitante natural da microbiota intestinal da espécie alvo; apresentar sobrevivência e colonização no trato gastrointestinal (resistência ao ácido gástrico e secreções biliares); apresentar produção de substâncias antimicrobianas; ser antagonista às bactérias patogênicas; apresentar modulação de resposta imunológica; ter adequadas características organolépticas; apresentar manutenção da viabilidade do aditivo em condições normais de armazenamento; ser tecnologicamente adequado para o processamento industrial, como liofilização.

Com a preocupação de se preservar e proteger o meio ambiente, a utilização de probióticos passou a ter mais importância por ser uma alternativa ao uso de antibióticos na produção animal, pois são substâncias capazes de atuar de forma benéfica a saúde do hospedeiro sem prejudicar o ambiente (Verschuere et al., 2000; Wang et al., 2008).

Devido a íntima relação entre os organismos aquáticos e a água, ao se utilizar probióticos na aquicultura, é importante se atentar para a possibilidade da manutenção ou reprodução, tanto dos organismos probióticos quanto de patógenos na água e/ou no hospedeiro (Hansen & Olafsen, 1999; Verschuere et al., 2000).

Para produção de organismos aquáticos, destacam-se os seguintes probióticos: gênero *Bacillus* (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformes* e *B. circulans*); gênero *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium bifidum*, *B. breve*, *B. lactis*, *B. longum* e *B. thermophilum*); bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus* e *Carnobacterium*); a levedura *Saccharomyces*; em menor escala as bactérias *Enterococcus faecium* e *Streptococcus thermophilus* (Cruz et al., 2012; Verschuere et al., 2000).

A ação dos probióticos sobre a saúde dos animais ocorre de maneiras diversas e complexas, as quais ainda não estão totalmente elucidadas. Alguns processos podem alterar a atividade e a composição bacteriana intestinal (Ohimain & Ofongo, 2012) e os mecanismos mais conhecidos de atuação dos probióticos estão divididos em fisiológicos, nutricionais e microbiológicos (Fuller, 1989; Saad, 2006). A ação fisiológica está relacionada à imunomodulação pela estimulação da resposta pró e antiinflamatória (Delcenserie et al., 2008), que pode responder com aumento dos níveis de anticorpos e da atividade dos macrófagos (Fuller, 1989). A presença de enzimas digestivas suplementares e auxiliares na digestão de nutrientes das dietas e disponibilização de vitaminas são fatores nutricionais relacionados com a presença do organismo probiótico no trato gastrointestinal do hospedeiro (Gatesoupe 2008; Gómez and Balcàzar, 2008; Ringø, 2008; Tinh et al., 2008). Por fim, o principal mecanismo de ação microbiológica do probiótico, é a exclusão competitiva, segundo a qual os probióticos ocupam sítios de ligação na mucosa intestinal, impedindo a ligação dos organismos patogênicos (Furlan et al., 2005). Segundo Pelicano et al. (2002), também

ocorre competição entre os microrganismos probióticos e os patogênicos por nutrientes específicos, o que poderia prejudicar os microrganismos patogênicos.

A levedura da cana-de-açúcar, *Saccharomyces cerevisiae*, também conhecida como levedura do álcool, possui características como atuação benéfica à saúde dos animais (Sakai et al., 2001; Ortuño et al., 2002; Li & Gatlin, 2003, 2004a), capacidade de colonização do intestino (Meurer et al., 2007) e portanto pode ser utilizada como probiótico (Pennacchia et al., 2008; Garcia & Laurenti 2013) em dietas para peixes. Acrescido a isso, essa levedura apresenta boa disponibilidade, fácil incorporação às dietas e resistência aos processos de confecção (Hisano et al., 2004).

Levedura do álcool, *Saccharomyces cerevisiae*, em dietas para peixes

A levedura do álcool, *S. cerevisiae*, é um fungo unicelular não patogênico que faz fermentação alcoólica e é amplamente utilizado na produção de pães, bebidas e outros alimentos (Raw et al., 2001; Pelczar Jr et al., 1996). Esta levedura vem sendo utilizada em dietas para peixes em função do seu alto teor de proteína bruta, que pode variar de 370 a 450g kg⁻¹ (Lazzari et al., 2006) e de suas propriedades como probiótico (Cechim, 2013).

Utilizando *S. cerevisiae* juntamente com farelo de soja na substituição da farinha de carne e ossos em dietas para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), Coldebella & Radünz Neto, (2002) concluíram que a farinha de carne e ossos é dispensável quando comparada com a mesma dieta base contendo 346,0g kg⁻¹ de farelo de soja e 346,0g kg⁻¹ de *S. cerevisiae*.

Por possuir características de organismo não patogênico, capaz de colonizar o intestino (Gatesoupe, 1999; Schrezenmeir & Vrese, 2001; Meurer et al., 2006; Mello et

al., 2013) e promover melhorias na saúde dos hospedeiros (Gatesoupe, 1999; Schrezenmeir & Vrese, 2001), alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) quando submetidos a alta densidade, como fator estressante, e alimentados com dieta contendo 1,0g kg⁻¹ de levedura *S. cerevisiae*, apresentaram maior ganho em peso e melhor conversão alimentar quando comparados com os alevinos alimentados sem levedura ou com *Streptococcus faecium* e *Lactobacillus acidophilus* na mesma quantidade (Lara-Flores et al., 2003).

Avaliando a inclusão de 0,0; 0,25; 0,50; 1,0; 2,0; e 5,0g de *S. cerevisiae* kg⁻¹ de dieta para alevinos de tilápia-do-nilo (*O. niloticus*), expostos a *Aeromonas hydrophila*, Abdel-Tawwab et al, (2008) verificaram que a inclusão da levedura na dieta melhorou a sobrevivência dos animais e diminuiu a contagem de bactérias no soro dos peixes, sendo o nível de 1,0g kg⁻¹ o que proporcionou melhor sobrevivência aos peixes. Para trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), a incorporação de 1,25g kg⁻¹ do produto DVAqua®, que é um fermentado da levedura *S. cerevisiae*, na dieta, promoveu aumento na sobrevivência, conversão alimentar e ganho em peso dos peixes nas fases inicial e final de produção (Barnes & Durben, 2010).

A utilização de uma dieta contendo *S. cerevisiae*, combinada com *Bacillus subtilis* e *Lactococcus lactis* na concentração de 10¹¹ UFCkg⁻¹ de dieta para alevinos de *Labeo rohita* durante 30 dias proporcionou aumento no ganho em peso, eficiência protéica, retenção de nutrientes e melhorias na digestibilidade da dieta dos peixes quando comparada com aqueles alimentados com a dieta basal, isenta de probióticos (Mohapatra et al., 2011).

Ao avaliarem o desempenho produtivo e parâmetros hematológicos de tilápias-do-nilo (*O. niloticus*) alimentadas com dietas contendo 3,0g kg⁻¹ de parede celular de *S. cerevisiae* e vacinadas contra *Streptococcus agalactiae*, Salvador et al. (2013)

concluíram que, sob desafio, os peixes alimentados com dietas contendo levedura apresentaram maior ganho de peso e maior taxa de crescimento específico, e ainda que, a interação entre a dieta e a vacinação resulta em maiores taxas de hematócrito, hemoglobina e leucócitos, mostrando a importância e a necessidade do estudo da levedura na alimentação de peixes, visando melhorias na saúde dos animais e no ganho produtivo.

Avaliando a levedura *S. cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia-do-nylo (*O. niloticus*) submetidos a desafio sanitário, Meurer et al. (2007) concluíram que a administração de 1,0g kg⁻¹ de levedura aos alevinos promoveu a colonização do intestino, mas não influenciou o desempenho produtivo e a sobrevivência dos peixes quando em sistema de cultivo com esterco suíno como desafio sanitário.

Em alevinos de tilápia-do-nylo (*O. niloticus*) alimentados com 3,0g kg⁻¹ do prebiótico mananoligossacarídeo (MOS), que é composto por parede celular da levedura *S. cerevisiae*, ou com 4,15 X 10⁷ UFC⁻¹g de dieta com *Bacillus subtilis*, Carvalho et al. (2011) não observaram variações nos parâmetros de desempenho, entretanto, verificaram maior altura das vilosidades intestinais nos animais alimentados com as dietas contendo os aditivos. Resultados semelhantes foram observados por Cechim et al. (2013), quando alimentaram por 30 dias, tilápias-do-nylo (*O. niloticus*) com dietas contendo o prebiótico mananoligossacarídeo (MOS) no nível de 4,0g kg⁻¹ de inclusão, porém aos 60 dias de experimento, os mesmos autores observaram diminuição na altura da vilosidade do intestino dos peixes, alimentados com 4,0g kg⁻¹ de MOS, quando comparados aos peixes do controle.

Avaliando mananoligossacarídeo (MOS) em dietas para larvas de tilápia-do-nylo (*O. niloticus*), Schwarz et al. (2011) encontraram melhora significativa na conversão alimentar e aumento do comprimento do intestino, da altura das vilosidades e da

densidade de vilos intestinais, mas não encontraram variação no número de células caliciformes.

Tubo digestório de peixes

O aparelho digestório dos peixes é similar ao dos demais vertebrados, variando fisiologicamente e morfológicamente de acordo com o hábito alimentar do animal (Fagbenro et al., 2000; Tengjaroenkul, 2000). Essas variações e especializações morfológicas foram naturalmente selecionadas em função dos níveis tróficos nos quais cada espécie evoluiu, resultando na grande diversidade de hábitos alimentares existentes (Dabrowski & Portella, 2005). Vários autores dividem o aparelho digestório dos peixes em: intestino cefálico (cavidade bucofaringeana), intestino anterior (esôfago e estômago), intestino médio (intestino propriamente dito) e intestino posterior (reto ou valva ileorretal) (Rodrigues & Menin, 2008; Rodrigues et al., 2008). O pâncreas, vesícula biliar e fígado são órgãos acessórios ao tubo digestório (Rust, 2002). Esses acessórios são embriologicamente derivados do mesmo endoderma do tubo digestório e, são importantes por liberarem enzimas digestivas no tubo digestório e pelas funções metabólicas relacionadas aos alimentos já digeridos (Romer & Parsons, 1985), completando assim a digestão e absorção dos alimentos.

O intestino cefálico é constituído pela cavidade bucofaringeana, que é compartilhada pelos aparelhos respiratório e digestório, sendo limitado anteriormente pela boca (orifício bucal - lábios) e posteriormente pelo último par de arcos branquiais. Esta região é de extrema importante na apreensão, seleção e condução do alimento até o esôfago (Godinho, 1970).

O intestino anterior é composto pelo esôfago e estômago, terminando no esfíncter pilórico. O esôfago nos elasmobrânquios e na maioria dos *Actinopterygii* é uma área curta que liga a faringe (intestino cefálico) ao estômago nos peixes com estômago e ao

intestino nos peixes sem estômago (Hibiya, 1982), podendo apresentar epitélio ciliado e rico em células mucosas e frequentemente (Smith, 1980; Romer & Parsons, 1985), o que facilita o deslocamento do alimento.

Em relação ao estômago, os peixes apresentam grandes variações de forma, as quais estão relacionadas ao hábito alimentar. Basicamente são quatro formas encontradas, sendo: estômago reto, estômago em forma de U, estômago em forma de Y e peixes, que apresentam uma dilatação intestinal, mas não apresentam estômago característico (Smith, 1980). As principais funções do estômago são armazenamento, digestão física e química dos alimentos (Romer & Parsons, 1985). Vários autores dividem o estômago em três regiões, sendo elas a cárdica, a fúndica e a pilórica, tomando como critério para determinar essas regiões a estrutura anatômica e a presença ou não de determinadas glândulas gástricas (Godinho, 1970; Gomes, 1981; Romer & Parsons, 1985; Kuchinski, 1985).

Na maioria dos mamíferos há uma clara diferença de diâmetro entre o intestino delgado e intestino grosso, o que na maioria dos peixes, não ocorre. Além disso, o intestino delgado de mamífero é dividido em três partes (duodeno, jejuno, íleo), com base principalmente em características histológicas. Mais uma vez, em peixes tal divisão é, em geral, menos clara. Em peixes é comum classificar o intestino em três regiões (proximal, médio, distal). Muitas vezes, a divisão é arbitrária, que corresponde à cerca de um terço para cada região (Farrell, 2011). Assim, em peixes, denomina-se intestino médio a porção compreendida entre o esfíncter pilórico e a região retal. Sua principal função é continuar o processo digestivo que se iniciou no estômago, e absorver os nutrientes liberados a partir da digesta. Tal região pode ser subdividida em porção anterior (intestino delgado, ascendente ou íleo) e porção posterior (intestino grosso ou descendente). Além das regiões supracitadas, muitas espécies possuem

estruturas denominadas cecos pilóricos, cuja estrutura básica é semelhante ao epitélio intestinal, e sua função é aperfeiçoar a absorção de nutrientes, através do aumento do tempo de permanência da digesta no lúmen intestinal e maior superfície de absorção (Godinho, 1970; Smith, 1980).

Histologicamente as células secretoras e de absorção possuem padrão cuboide na porção anterior do intestino, e passam para um padrão escamoso na porção posterior, onde sua função primordial passa a ser a secreção de muco para a lubrificação do epitélio intestinal (Smith, 1980). O epitélio da mucosa intestinal é composto por células caliciformes e células endócrinas espalhadas entre um grande número de enterócitos (células prismáticas com microvilosidades que aumentam a superfície). As células caliciformes secretam muco e várias enzimas digestivas. Células endócrinas voltadas para a lâmina própria secretam hormônios que ajudam a regular os processos digestivos (Hibiya, 1982).

O comprimento do intestino também tem relação com o hábito alimentar da espécie. As diferenças no comprimento do intestino entre herbívoros e carnívoros também podem ser vistas durante o desenvolvimento, quando há mudanças na dieta de fontes proteicas de origem animal para fontes protéicas de origem vegetal. Isto é geralmente acompanhado por mudança no comprimento relativo do intestino (Farrell, 2011).

Os intestinos proximal, médio e distal são comumente denominados apenas intestino médio e corresponde ao intestino delgado dos mamíferos, enquanto que, o que é chamado de reto nos peixes corresponde ao cólon (intestino grosso) e reto nos mamíferos. O intestino grosso nos peixes é, normalmente, separado do restante do intestino por uma válvula (ileorretal) e distingue-se na aparência da mucosa e o intestino termina com um esfíncter anal (Farrell, 2011).

No intestino, encontram-se as vilosidades ou vilos intestinais, que são evaginações da mucosa intestinal compostas pelo epitélio e lâmina própria, que se projetam na luz do intestino aumentando significativamente a área de superfície intestinal (Junqueira & Carneiro, 2013). São constituídos pelos enterócitos, células caliciformes, e células enteroendócrinas (Boleli et al., 2002). A maioria dos peixes não apresenta criptas como nos vertebrados e a proliferação celular do epitélio do vilos ocorre pela multiplicação mitótica de células indiferenciadas na base dos vilos (Jobling, 1995). O conhecimento da mucosa intestinal dos peixes é importante para fornecer informações aos estudos de nutrição pelo fato das vilosidades intestinais estarem relacionadas com a capacidade de absorção de nutrientes pelo animal (Junqueira & Carneiro, 2012; Cechim, 2013). De maneira geral, o número de enterócitos presentes nos vilos, a densidade de vilos, o tamanho dos vilos, assim como a manutenção destes através da renovação celular do epitélio intestinal, também influenciam diretamente na digestão, absorção de nutrientes e conseqüentemente ganho de peso dos animais como afirmam Boleli et al. (2002), no caso, para frangos de corte.

O desenvolvimento da mucosa intestinal se dá pelo aumento no número das células epiteliais (enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas), correspondendo ao aumento na altura e densidade dos vilos no epitélio intestinal (Maiorka et al., 2002 e Mello et al., 2013). Quanto mais íntegra a mucosa maior será o tamanho das vilosidades intestinal e maior a absorção de nutrientes (Garcia, 2008), influenciando diretamente no desempenho e saúde dos peixes (Silva et al., 2010 e Jobling, 1995). Nesse contexto, vários estudos têm mostrado a importância das vilosidades intestinais e suas relações com a nutrição e saúde, não só de peixes, mas também de outros animais.

Células caliciformes

As células caliciformes da mucosa intestinal são responsáveis pela produção de muco, constituído por glicoproteínas hidrofílicas, que protegem e lubrificam o revestimento do intestino (Junqueira & Carneiro, 2013). O muco secretado pelas células caliciformes dificulta a adesão de microrganismos patogênicos e também age como bactericida devido à presença de lisozima (Noga, 1995), influenciando diretamente na saúde dos animais. O aumento no número de células caliciformes pode ser indicativo de um processo de agressão causado por infecção, toxinas, ou outros fatores (Schwarz et al., 2011). Trabalhos na literatura corroboram a importância das células caliciformes na saúde dos animais. Juvenis de tilápias-do-nylo (*O. niloticus*) alimentados com dietas contendo *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* como probióticos, apresentaram maior número de células caliciformes no epitélio intestinal (Mello et al., 2013). Entretanto, Schwarz et al., 2011 não encontraram diferença significativa no número de células caliciformes em larvas desta mesma espécie, quando alimentadas com dietas contendo mananoligossacarídeo (MOS).

Em girinos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*), Seixas Filho et al. (2008) encontraram relação entre o aumento do número de células caliciformes e o aumento de proteína bruta da dieta. Resultados semelhantes foram observados por Oliveira et al. (2000), ao avaliarem células caliciformes em frangos de corte alimentados com leucena (*Leucaena leucocephala* e *Leucaena cunningan*) e o feijão guandu (*Cajanus cajan*).

Túnica muscular

A camada muscular do intestino, formada pelas túnicas circular interna e a longitudinal externa, é responsável pelo movimento peristáltico contínuo do intestino

delgado e define o volume e o tamanho do lúmen intestinal assim como a capacidade de contração do tubo digestório (Junqueira & Carneiro, 2012). Shiraishi et al. (2009) defendem a importância de se estudar os mecanismos de regulação do desenvolvimento da túnica muscular por ser parâmetro de boa saúde e nutrição dos animais.

Foi observado por Kihara et al. (1995) a relação da fermentação de alimentos no intestino com o aumento da espessura da túnica muscular em *Pagrus major*, teleósteo marinho carnívoro criado em cativeiro.

Em outras espécies a túnica muscular também apresenta relações com a saúde e a dieta. Bauer (2008) afirma que em roedores a túnica muscular externa tem grande importância imunológica, contendo macrófagos, leucócitos e responde com hipercontratibilidade à presença de endotoxinas secretadas por microrganismos patogênicos, no intuito de causar a expulsão do parasito. Em ratos com privação de proteína na dieta, foi observado a diminuição da espessura da túnica muscular, mostrando que esta túnica pode ser um parâmetro de avaliação da boa nutrição do animal (Torrejais et al., 1995; Molina et al., 2009), corroborando os dados de Shiraishi et al. (2009).

Microbiota intestinal

A microbiota intestinal é composta por organismos autóctones, com capacidade de colonizar a superfície do epitélio intestinal do hospedeiro, e espécies alóctones, composta por bactérias com presença transitória no trato gastrointestinal. Estudos mostram que o trato gastrointestinal tem sido a principal rota de entrada de organismos patogênicos, sendo que a microbiota autóctone pode atuar como barreira à entrada desses agentes patogênicos (Ringø & Birkbeck, 1999; Ringø et al., 2003). Microrganismos Gram-negativos são predominantes na microbiota intestinal de peixes, sendo os gêneros mais comumente encontrados o *Vibrio* e *Pseudomonas*, em peixes

marinhos, crustáceos e bivalves, e *Aeromonas*, *Plesiomonas* e *Enterobacterium*, em peixes de água doce (Makino et al., 2012).

A importância desta especificidade, presente entre as espécies aquáticas, reside no fato de que os probióticos eficientes para as criações terrestres, como suínos, aves e coelhos podem ser diferentes dos probióticos utilizados em piscicultura. Outro fato relevante em organismos aquáticos é que estes possuem sua microbiota intestinal composta em sua maioria por microrganismos transeuntes, isto é, bactérias livres no lúmen intestinal, diferentemente dos animais domésticos, onde a maioria dos componentes da flora microbiana está associada ao epitélio intestinal, sendo, portanto, permanentes.

O ambiente em que vivem os peixes exerce influência de forma significativa na composição da população microbiana do trato gastrointestinal (Silva et al., 2005). Estes animais não regulam a temperatura corporal e a associação de microrganismos no lúmen intestinal pode variar conforme a temperatura (Leitão & Silveira, 1992). A salinidade é outro ponto importante na determinação desta população (Ringø & Strøm, 1994). Assim, a água dos tanques e a própria alimentação dos animais podem ser fontes de microrganismos que venham a colonizar a microbiota intestinal.

Lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae*

O lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000), também conhecido como piaba-do-rabo-amarelo, tambuí ou lambari-tambuí, pertence à família Characidae, podendo ser encontrado em rios de águas rápidas, lagoas, várzeas e igarapés de todo o território brasileiro, indo do nordeste até a Bacia do Prata (Souza & Andrade, 1983; Silva et al., 1983; Cotan et al., 2006). É uma espécie que apresenta status de conservação não ameaçado (Bennemann et al., 1995). Na natureza pode chegar a 20 centímetros de comprimento e a 60 gramas (Ihering & Azevedo, 1936; Porto-

Foresti et al., 2010). Essa espécie apresenta estômago definido, delimitado do intestino pela presença de esfíncter pilórico, o estômago é saciforme simples com paredes bem delgadas, com cecos pilóricos curtos e em pequeno número (4 a 7), sendo o intestino curto com apenas uma volta na cavidade abdominal (Loureiro-Crippa, 2006).

Em função do hábito alimentar onívoro, alta prolificidade, maturidade sexual aos quatro meses de idade, ciclo de produção curto e facilidade de manejo (Porto-Foresti et al., 2010), essa espécie pode ser recomendada para a criação em cativeiro com diversas finalidades como: alimentação humana, isca para pesca esportiva, peixe forrageiro ou ornamentação (Garutti, 2003). Devido ao seu potencial de mercado e sua importância na piscicultura nacional, fatores relacionados à sua nutrição, produção e saúde, têm sido alvo de vários estudos.

Com relação às pesquisas com as espécies do gênero *Astyanax*, destacam-se aquelas desenvolvidas com o *Astyanax bimaculatus*, onde são apresentadas as exigências em energia digestível e proteína bruta, que se aproximam de 2.900kcal de energia digestível kg^{-1} de dieta para dietas com 320,0 e 380,0g kg^{-1} de proteína bruta, respectivamente (Cotan et al., 2006). Para o lambari-do-rabo-vermelho *A. fasciatus*, Salaro et al. (2008) concluíram que os níveis de exigência de proteína e energia para essa espécie são de 260,0g kg^{-1} de proteína bruta e 3.100kcal de energia digestível kg^{-1} de dieta, respectivamente. Furuya et al. (2013) avaliaram a composição proximal e o perfil de ácidos graxos do lambari-do-rabo-vermelho *A. fasciatus* em diferentes classes de peso e concluíram que, independentemente da classe de peso, o lambari-do-rabo-vermelho apresenta relações satisfatórias de ácidos graxos n-3/n-6 e AGP/AGS e níveis de proteína e lipídios para consumo humano.

Para a espécie *A. altiparanae*, Abimorad & Castellani (2011) estimaram, em função da composição da carcaça e do músculo, respectivamente, as exigências de lisina

(5,13; 4,86g kg⁻¹) e metionina (2,89; 2,29g kg⁻¹) na proteína total da dieta. Estudos avaliando fontes de óleos vegetais (canola, milho, linhaça, girassol, oliva e soja) na alimentação do lambari-do-rabo-amarelo demonstraram que, tais óleos são bons fornecedores de ácidos graxos precursores na síntese de eicosanóides, mostrando que esta espécie possui alta capacidade de realizar a dessaturação e alongamento de ácidos graxos da serie n-3 ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosa-hexaenoico (DHA) (Tavares, 2011). A capacidade de realizar a dessaturação e alongamento de ácidos graxos da serie n-3 foi confirmada por Gonçalves et al. (2014), quando avaliaram o perfil de ácidos graxos de lambari-do-rabo-amarelo em cativeiro, os quais, apesar de estarem sendo alimentados com uma dieta pobre nos ácidos araquidônico (AA), EPA e DHA, apresentaram maiores concentrações desses ácidos graxos em seus tecidos do que a quantidade fornecida através da dieta utilizada.

A substituição de óleo de peixe e de soja por óleo de linhaça em dietas para lambaris-do-rabo-amarelo também mostrou que esta espécie não tem dependência direta do óleo de peixe para a produção de ácidos graxos altamente insaturados e que o uso de uma dieta isenta de óleo de peixe e com a inclusão de 36g de óleo de linhaça e 24g de óleo de soja kg⁻¹ dieta pode produzir um pescado rico em ácidos graxos da serie n3 (Pontes, 2013). Testando seis níveis de inclusão do ácido linoléico conjugado (CLA) (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0g de CLA kg⁻¹ de dieta) em dietas para lambaris-do-rabo-amarelo, Campelo et al., (no prelo) não encontrou diferenças no desempenho produtivo e na composição química da carcaça em juvenis de *A. altiparanae*, porém houve maior incorporação de CLA na carcaça dos peixes alimentados com o maior nível. A utilização de 0,5g kg⁻¹ de óleo de orégano, como promotor de crescimento, em dietas para *A. altiparanae*, promoveu aumento da proteína corporal (Ferreira et al., 2014).

Sussel (2012) confirmou a plasticidade trófica do lambari ao avaliar a substituição de fontes protéicas de origem animal (farinha de vísceras de aves, farinha de carne, farinha de peixe e farinha de sangue) por fontes protéicas de origem vegetal (farelo de soja e farelo de algodão), em uma dieta com 260,0g kg⁻¹ de proteína bruta. Os resultados mostraram que o ganho de peso foi apenas 70g kg⁻¹ menor para os peixes que receberam dietas a base de proteína vegetal, quando comparados com os que receberam dietas a base de proteína animal. Porém, o autor afirma que esse menor ganho foi economicamente compensado pelo menor custo dos ingredientes protéicos de origem vegetal.

Embora exista o interesse de vários pesquisadores na produção de lambaris-do-rabo-amarelo em cativeiro, pouco se sabe sobre a ação e o efeito de outros ingredientes no aparelho digestório desta espécie. Portanto, com esse estudo objetivou-se avaliar o efeito da levedura *Saccharomyces cerevisiae* sobre colonização e a histomorfometria intestinal de lambaris-do-rabo-amarelo *A. altiparanae*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-Tawwab Mohsen; Azza M. Abdel-Rahman; Nahla E.M.I. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*; 280, 185-189, 2008.

Abimorad, E.G; & Castellani, D. Exigências nutricionais de aminoácidos para o lambari-do-rabo-amarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37, 31-38, 2011.

Balcázar, J.L.; De Blas, I.; Ruiz-Zarzuela, I.; Cunningham, D.; Vendrell, D.; Múzquiz, J.L. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*, 114, 173-186, 2006.

Barnes, M. E.; Durben D. J. An evaluation of DVAqua®, a full-fermented yeast culture, during long-term hatchery rearing of Mc Conaughy strain rainbow trout. *Aquaculture Nutrition*, 16, 299-304, 2010.

Bauer, A.J. Mentation on the immunological modulation of gastrointestinal motility. *Neurogastroenterol Motility*, 20(1), p.81-90, 2008.

Bennemann, S.T.; Silva-Souza, A. T.; Rocha, G. R. A. Composición ictiofaunística em cinco localidades de la cuenca del rio Tibagi. *Interciencia*, 20, 7-13, 1995.

Boleli I. C.; Maiorka A.; Macari M. Estrutura funcional do trato digestório. In: Macari M.; Furlan RL.; Gonzales E. editores. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal, Funep, 75-96, 2002.

Campelo, D.A.V., Oliveira, K.R.B. De, Batiston, W.P., Zuanon, J. A. S., Furuya, W.M., Matsushita, M., Slaro A. L., (no prelo). Conjugated linoleic acid in diets for lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000). *Aquaculture Nutrition*, 2014.

Carvalho, J. V. De; Lira, A. D. De; Costa, C. S. P.; Moreira, E. L. T.; Pinto, L. F. B.; Abreu, R. D.; Albinati, R. C. B. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 12(1), 176-187, 2011.

Cechim, F. E. Características morfológicas do epitélio intestinal e desempenho de tilápia do nilo *Oreochromis niloticus* suplementada com mananoligossacarídeo (mos). Dissertação (Produção Animal). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, 2013.

Coldebella, I.J.; Radünz Neto, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). Revista Ciência. Rural, 32, 499–503, 2002.

Coppola, M. de M.; Gil-Turnes, C. Probióticos e resposta imune. Revista. Ciência Rural, 34(4), 2004.

Cotan, J.L.V.; Lanna, E.A.T.; Bomfim, M.A.D.; Donzele, J.L.; Ribeiro, F.B.; Serafini, M.A. Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari-tambuí. Brazilian Journal of Animal Science, 35(3), 634-640, 2006.

Cruz, P.M., A.L. Ibanez, O.A.M. Hermosillo; H.C.R. Saad. Use of probiotics in aquaculture. ISRN Microbiology, 13p, 2012.

Dabrowski, K. & Portella, M. C. Feeding plasticity and nutritional physiology in tropical fishes. Pp. 155-209. In: Fish Physiology A. Val; V. M. F. Almeida-Val & D. Randall (Eds.), volume 21. Amsterdam, Elsevier, 400p, 2005.

Delcenserie V; Martel D; Lamoureux M; Amiot J; Boutin Y; Roy D. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. Molecular Biology, 10, 37–54, 2008.

Fagbenro, O.; Adedire, C.O.; Ayotunde, E.O & Famine, E.O. Haematological profile, food composition and digestive enzyme assay in the gut of the African bony-tongue (*Clupisudis niloticus* (Cuvier 1829) (Osteoglossidae). Tropical Zoology, 13, 1-9, 2000.

Farrell, A. P. (ed). Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment. Academic Press, 2011.

Ferreira, P. de M. F.; Nascimento, L. da S.; Dias, D. C.; Moreira, D. M. da V.; Salaro, A. L.; Freitas, M. B. D. de; Carneiro, A. P. S.; Zuanon, J. A. S. Essential Oregano Oil as a Growth Promoter for the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*. Journal of the World Aquaculture Society, 45, 28–34. 2014.

- Fuller, R. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-378, 1989.
- Furlan, R.L. Avaliação e uso de pré e probióticos. In: Simpósio Brasil Sul De Avicultura, Anais, 6, 58-74, 2005,
- Furuya, V. R. B.; Furuya, W. M.; Michelato, M.; Salaro, A. L.; Matsushita, M.; Batiston, W. P. Composição proximal e perfil de ácidos graxos do lambari-do-rabo-vermelho (*Astyanax fasciatus*) de diferentes classes de peso. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 14, 820-830, 2013.
- Garcia, F. Suplementação alimentar com beta-glucano e mananoligossacarídeo para tilápia-do-nilo em tanques-rede. Tese (Aquicultura). Unesp. Jaboticabal, 2008.
- Garcia, S.& Laurenti, E. Eficiência de materiais encapsulantes naturais e comerciais na liberação controlada de probiótico encapsulado. *Brazilian Journal of Food Technology*, 16, 107-115, 2013.
- Garutti, V. & Britski, H.A. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS*, 13, 65-88, 2000.
- Garutti, V. *Piscicultura ecológica*. 1. ed. São Paulo: Editora Unesp, v. 1, 332p, 2003.
- Gatesoupe, F. J. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 14, 107-114, 2008.
- Gatesoupe, F.J. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180, 147-165, 1999.
- Godinho, H. M. Considerações gerais sobre anatomia de peixes, 118 – 122. In: *Poluição e piscicultura*. São Paulo, Faculdade de Saúde Pública e Instituto de Pesca, CPRN – Secretaria da Agricultura, 216p, 1970.

Gomes, R. M. Estudo morfológico e histoquímico (Carboidratos) do trato digestivo de *Rhamidia branneri* (Hasemman, 1911) Pisces. Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1981.

Gómez, G. D. & Balcázar, J.L. A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish. Federation of European Microbiological Societies - Immunology & Medical Microbiology, 52, 145–154, 2008.

Gonçalves, L.U.; Parisi, J.; Bonelli, A.; Sussel, F.R.; Viegas, E.M.M. The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000) broodstock. Aquaculture Research, 45, 195–203, 2014.

Hansen, G.H. & Olafsen, J.A. Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish. Microbial Ecology, 38, 1-26, 1999.

Hibiya, T. An atlas of fish histology, normal and pathological features. New York. Gustav Fischer Verlag, 1982.

Hisano, H.; Pezzato, L.E.; Barros, M.M.; Freire, E.S.; Gonçalves, G.S.; Ferrari, J.E.C. Zinco e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Acta Scientiarum - Animal Sciences, 26, 171-179, 2004.

Horn, M. H. Feeding and digestion. In: The Physiology of Fishes (D. H. Evans, ed.), pp. 43–63. CRC Press, Boca Raton, 1997.

Ihering, R. Von & P. Azevedo. As piabas dos açudes nordestinos (Characidae, Tetragonopterinae). Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 7: 75-110, 1936.

Jobling, M. Environmental biology of fishes. Fish and Fisheries Series 16. London: Chapman & Hall, 455p, 1995.

Junqueira, L.C.; Carneiro, J. Biologia celular e molecular. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 376p.

Junqueira, L.C.; Carneiro, J. Histologia básica. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 556p.

Kesarcodi-Watson A.; Kaspar H.; Lategan M. J.; Gibson L. Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture* 274, 1-14, 2008.

Kihara, M., Ohba, K.; Sakata, T. Trophic effect of dietary lactosucrose on intestinal túnica muscularis and utilization of this sugar by gut microbes in red seabream *Pagrus major*, a marine carnivorous teleost, under artificial rearing. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 112, 629-634, 1995.

Kuchinski, F. B. Anatomia, Histologia e Histoquímica do Estômago de *Colossoma mitrei*, Berc, 1895 (Pacu-Caranha) nos Estágios Alevino Jovem, Peixe Jovem e Adulto. Tese, Universidade Mackenzie, São Paulo, 1985.

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzmán-Méndez, B.E., López-Madrid, W. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 216, 193–201, 2003.

Lazzari, R.; Radünz N. J.; Emanuelli, T.; Pedron, F.A.; Costa, M.L.; Losekann, M.E.; Corrêia, V.; Bochi, V.C. Diferentes fontes protéicas para a alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*). *Ciência Rural*, 36(1), 240-246, 2006.

Leitão, M.F.M. & Silveira, N. F. Influência da temperatura ambiental na natureza e potencial deteriorador da microbiota bacteriana de peixes em ambientes lacustres Tropicais. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, 23(1), 85-96, 1992.

Li, P. & Gatlin, D.M. Dietary brewers yeast and the prebiotic GrobioticTME influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*, 231, 445-456, 2004.

Li, P. & Gatlin, D.M. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 219, 681-692, 2003.

Lilly D. M, Stillwell R. H. Probiotics. Growth promoting factors produced by micro-organisms. *Science*, 147, 747–8. 1965.

Loureiro-Crippa, V.E. Dieta, hábitos alimentares e morfologia trófica de peixes de pequeno porte, em lagoas da planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil. Tese (Ciências Ambientais). Universidade Estadual de Maringá, 2006.

Maiorka, A. Efeito da idade da matriz e do agente trófico (glutamina) sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte na primeira semana. Tese (Zootecnia) Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2002.

Makino, L. C.; Faustino, F.; Paes, M. C. F.; Beraldo-Massoli, M. C.; Cardozo, M. V.; Schocken-Iturrino, R. P.; Nakaghi, L. S. O. Morfologia e quantificação da microbiota intestinal do curimatá (*Prochilodus lineatus*) e do cascudo cinza (*Pterygoplichthys anisitsi*) cultivados em cativeiro. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 64, 916-926, 2012.

Mello, H. de; Julieta R.E. de M.; Niza, I.G.; Moraes, F. R. de; Ozório, R.O.A.; Shimada, M.T.; Engracia Filho, J.R.; Claudiano, G.S. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. Pesquisa Veterinária Brasileira, 33(6),724-730, 2013.

Meurer, F.; Hayashi, C.; Costa, M. M da. da.; Freccia, A.; Mauerwerk, M. T. *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia-do-nilo submetidos a desafio sanitário. Brazilian Journal of Animal Science, 36, 1219-1224, 2007.

Mohapatra, S., Chakraborty, T., Prusty, A.K., Das, P., Paniprasad, K. & Mohanta, K.N. Use of different microbial probiotics in the diet of rohu, *Labeo rohita* fingerlings: effects on growth, nutrient digestibility and retention, digestive enzyme activities and intestinal microflora. Aquaculture Nutrition, 18, 1–11, 2011.

Molina G., Pelissari F.M., Feirhmann A.C. Consequências Da Desnutrição Protéica Para O Trato Gastrintestinal Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar da Universidade Estadual de Maringá, 13(1), 2009.

Noga E.J. Fish Disease. Diagnosis and Treatment. Mosby-Year Book, St Louis. 367p. 1995.

Ohimain, E.I. & Ofongo, R.T.S. The Effect of Probiotic Prebiotic Feed Supplement on Chicken Health and Gut Microflora. *International Journal of Animal Veterinary Advances*, 4(2), 135-143, 2012.

Oliveira P. B., Murakami A. E., Garcia Erm, Macari M., Scapinello C. Influência de fatores antinutricionais da *Leucena* (*Leucena Leucocephala e Leucena Cunnimgan*) e do Feijão Guandu (*Cajanus Cajan*) sobre o epitélio intestinal e o desempenho de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29, 1759-1769, 2000.

Ortuño, J.; Cuesta, A.; Rodríguez, A.; Esteban, M.A.; Meseguer, J. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Spaurus auratus* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85, 41-50, 2002.

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

Pelczar Jr, M. J.; Chan, E. C. S.; Krieg, N. R. *Microbiologia*, vol. II, 2ª edição - São Paulo: Makron Books, 1996.

Pelicano, E. R. L.; Souza, P. A.; Souza, H. B. A. Prebióticos e Probióticos na nutrição de aves. *Ciências Agrárias e da Saúde*, 2(1), 59-64. 2002.

Pennacchia, C.; Blaiotta, G.; Pepe, O.; Villani, F. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* Strains from Different Food Matrices and their Preliminary Selection for a Potential Use as Probiotics. *Journal of Applied Microbiology*, 105(6), 1919-1928, 2008.

Pontes, M. D. Substituição de óleo de peixe e de soja por óleo de linhaça para lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*): Desempenho produtivo e perfil de ácidos graxos. Dissertação (Biologia Animal). Universidade Federal de Viçosa, 2013.

Porto-Foresti, F.; Castilho-Almeida, R.B.; Senhorini, J.A.; Foresti, F. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. (Baldisserotto, B. & Gomes, L.C. ed), 2º ed, p 101-115. Universidade Federal de Santa Maria, BRASIL, 2010.

Porto-Foresti, F.; Hashimoto, D. T.; Senhorini, J. A.; Híbridação em piscicultura: monitoramento e perspectivas. In: Baldisserotto, B.; Gomes, L. C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1, 589-601, 2010.

Raw, I.; Mennucci, L.; Krasilchik, M. A biologia e o homem. Editora da Universidade de São Paulo, 404p, 2001.

Ring  E. & Birkbeck T.H. Intestinal microflora of fish larvae and fry. Aquaculture Research 30, 73-93, 1999.

Ring , E. & Str m, E. Microflora of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* gastrointestinal microflora of free-living fish and effect of diet and salinity on intestinal microflora. Aquaculture Fishes Manager, 25, 623–629, 1994.

Ring , E. The ability of carnobacteria isolated from fish intestine to inhibit growth of fish pathogenic bacteria: a screening study. Aquaculture, 39, 171–180, 2008.

Ring , E.; Olsen, R. E.; Mayhew, T. M.; Myklebust, R. Electron microscopy of the intestinal microflora of fish. Aquaculture, 227, 395-415, 2003.

Rodrigues, S.S. & Menin, E. Anatomia do tubo digestivo de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1817) (Pisces, Characidae, Salmininae). Biotemas, 21(2), 65-75, 2008.

Rodrigues, S.S.; Navarro, R.D.; Menin, E. Anatomia do tubo digestório de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Characiformes, Anostomidae) em rela o ao seu hábito alimentar. Bioscience Journal, 24(3), 86-95, 2008.

Romer, A.S. & Parsons, T.S. Anatomia comparada dos vertebrados. Atheneu Ed. Ltda. São Paulo, 559p, 1985.

Rusch, V. Probiotics and definitions: a short overview. In: Probiotics: Bacteria and bacterial fragments as immunomodulatory agents. Vol. 15 (Heidt, P.J.; Midtvedt, T.; Rusch, V.; Van Der Waaij D. Eds). pp. 1–4. Herborn-Dill: Herborn Litterae. 2002.

Rust, M. B. Nutritional physiology. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition. Academic Press, Florida, USA, pp. 368–446, 2002.

Saad, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 42(1), 2006.

Sakai, M.; Taniguchi, K.; Mamoto, K.; Ogawa, H.; Tabata, M. Immunoestimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. Journal of Fish Disease, 24, p.433-438, 2001.

Salaro, A.L.; Saraiva, A.; Zuanon, J.A.S.; Balbino, E.M.; Moraes, S.S.S.; Kasai, R.Y.D. Níveis Protéicos e Energéticos em Dietas para Lambaris-do-rabo-vermelho, *Astyanax fasciatus*. Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aquicultura II. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2, 1-376, 2008.

Salvador, R.; Claudiano, G.S.; Loureiro, B.A.; Marcusso, P.F.; Fernandes Neto, S.; Pilarsk, F.; Toazza, C.S.; Moraes J.R.E.; Moraes F.R. Desempenho e hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com dieta suplementada com *Saccharomyces cerevisiae*, vacinadas e desafiadas com *Streptococcus agalactiae*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48(8), 892-898, 2013.

Schrezenmeir, J. & Vrese, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics: Approaching a definition. American Journal of Clinical Nutrition 73, 361S-364S, 2001.

Schwarz, K.K.; Furuya, W.M.; Natali, M.R.; Galdezi, M.C.; Lima, A.G. Patrícia. Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. Brazilian Journal of Animal Science, 40, 2634-2640, 2011.

Seixas Filho, J.T. de; Gomes, L.H.; Aguiar, D.V.C.; Hipólito, M.; Martins, A.M. C.R.P. da F.; Chaves, A.C.P. Avaliação histológica do intestino médio, do fígado e do pâncreas de girinos de rã-touro alimentados com rações comerciais formuladas com três níveis de proteína bruta. Brazilian Journal of Animal Science, 37, 2090-2096, 2008.

Shiraishi, C.S.; Azevedo, J.F. de.; Silva, A.V. da.; Sant'Ana, D. de M.G.; Araújo, E.J.A. Análise morfológica da parede intestinal e dinâmica de mucinas secretadas no íleo de frangos infectados por *Toxoplasma gondii*. Ciência Rural, 39, 2146-2153, 2009.

Silva, F.C.P.; Brito, M.F.G.; Farias, L.M.; Nicoli J. R. Composition and antagonistic activity of the indigenous intestinal microbiota of *Prochilodus argenteus* Agassiz. Journal of Fish Biology, 67, 1686-1698, 2005.

Silva, J.M.F.; Andrade, D.R.; Teixeira, S.M. Alimentação de lambari, *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) com excremento de suínos e ração. In: Reunião Anual para o Progresso da Ciência, 35, 736-737, 1983.

Silva, L.C.A.R.; Furuya, W.M.; Natali, M.R.M.; Schamber, C.R.; Santos, L.D.; Vidal, L.V.O. Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato. *Brazilian Journal of Animal Science*, 39(6), 1175-1179, 2010.

Smith L.S. Digestion in Teleost fishes. In *Fish Feed Technology*, ADCP/ REP/80/11, Food and Agriculture Organization, 4–18, 1980.

Souza, J.R. & Andrade, D.R. Dados preliminares sobre nutrição de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1958), Pisces: Characidae. *Seiva*, 2, 81-83, 1983.

Sussel, F.R. Fontes e níveis de proteína na alimentação do lambari-do-rabo-amarelo: desempenho produtivo e análise econômica. Tese (Zootecnia e Engenharia de Alimentos), Universidade de São Paulo, 2012.

Tavares, M. M., Fontes de óleos vegetais em dietas para lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*): desempenho produtivo, perfil de ácidos graxos, rendimento e composição de carcaça. Dissertação (Biologia Animal), Universidade Federal de Viçosa, 2011.

Tengjaroenkul, B.; Smith B.J.; Caceci, T. Smith S. A. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 182, 317-327, 2000.

Tinh, N.T.N.; Dierckens, K.; Sorgeloos, P.; Bossier, P.; A review of the functionality of probiotics in the larviculture food chain. *Marine Biotechnology*, 10, 1–12, 2008.

Torrejais M. M.; Natali M. R. M.; Conegero C. I., Miranda-Neto M. H. Effects of proteic malnutrition after breast-feeding on the morphology of the intestinal wall and myenteric neurons of the ileum of rats. *Revista Unimar*, 17(2), 315-327, 1995.

Verschuere, L.; Rombaut, G.; Sorgeloos, P.; Verstraete, W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, 655–671, 2000.

Vilela, C; Hayashi, C. Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. *Acta Scientiarum*; 23:2, 491-496, 2001.

Wang, Y. B.; Tian, Z. Q.; Yao, J. T.; Li, W. F. Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, 277, 203–207, 2008.

Zivkovic R. Probiotics or microbes against microbes. *Acta Medica Croatica*, 53 23-28, 1999.

CAPÍTULO I

COLONIZAÇÃO E MORFOMETRIA INTESTINAL DE LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO *Astyanax altiparanae* ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae* COMO PROBIÓTICO

COLONIZAÇÃO E MORFOMETRIA INTESTINAL DE LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO *Astyanax altiparanae* ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae* COMO PROBIÓTICO

RESUMO

Com este estudo objetivou-se avaliar o efeito da levedura *Saccharomyces cerevisiae* sobre a colonização e histomorfometria intestinal de lambaris-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae*. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com seis níveis de levedura na dieta (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0g kg⁻¹) e cinco repetições. Os animais (1,89±0,10g) foram alimentados durante 90 dias com as dietas-teste. Foram eutanasiados sete peixes, por unidade experimental, com óleo de cravo (400mg L⁻¹ de água) para extração do intestino e realização das análises de colonização da levedura no intestino, altura e largura das vilosidades intestinais, número de células caliciformes por vilosidade, espessura da túnica muscular e área de superfície aparente das vilosidades. Para os resultados da análise de colonização da levedura no trato intestinal dos peixes utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (P<0,10). Os demais dados foram submetidos ao Teste de Cochran, análise de variância (P<0,10) e regressão polinomial. Foi observada a colonização da levedura em todos os tratamentos excetuando-se o controle (0,00g kg⁻¹). Foi observado efeito linear crescente apenas para área de superfície aparente das vilosidades intestinais. Em função das vilosidades intestinais estarem diretamente envolvidas com a digestão e absorção de nutrientes pelo intestino conclui-se que a levedura atuou de forma benéfica nos lambaris-do-rabo-amarelo.

Palavras-chave: células caliciformes, histologia, levedura, peixes, túnica muscular, vilosidade intestinal.

**COLONIZATION AND INTESTINAL MORPHOLOGY OF THE
YELLOWTAIL TETRA *Astyanax altiparanae* FED WITH DIETS CONTAINING
YEAST *Saccharomyces cerevisiae* AS PROBIOTICS**

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* on colonization and intestinal histomorphometry of the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. A completely randomized design with six treatments of yeast in the diet (0.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 and 25.0g kg⁻¹) and five replicates was used. The animals (1.89 ± 0.10g) were fed for 90 days with the test diets. Seven fish in each experimental unit were euthanized with clove oil (400mg L⁻¹ of water) to extract the intestine and perform the analyzes of yeast colonization in the intestine, height and width of intestinal villi, number of goblet cells per villus, thickness of muscular layer and the apparent villi surface area. For the results of the analysis of yeast colonization in the intestinal tract of fish, the non-parametric Kruskal-Wallis test (P<0.10) was used. The other data were subjected to Cochran's test, analysis of variance (P<0.10) and polynomial regression. Yeast colonization was observed in all treatments except for the control (0.00g kg⁻¹). An increasing linear effect was observed only for the apparent intestinal villi surface area. Because the intestinal villi are directly involved with the digestion and absorption of nutrients in the intestine, it is concluded that the yeast acted beneficially in yellowtail tetra.

Keywords: fish, goblet cells, histology, intestinal villus, muscularis, yeast.

INTRODUÇÃO

A nutrição de peixes vem se desenvolvendo de forma crescente nos últimos anos (Nomura, 2010), possibilitando o aumento da produção e o fomento das indústrias processadoras de rações, para que estas possam atuar de forma eficiente na produção de rações que melhorem o desempenho e a saúde dos animais. Assim, destaque vem sendo dado a classes das substâncias que se enquadram no grupo dos probióticos.

Os probióticos estão comprovadamente relacionados com a prevenção de enfermidades (Li & Gatlin, 2003, 2004a), produção de enzimas digestivas suplementares e auxiliares (Waché et al., 2006; Gatesoupe, 2008; Tinh et al., 2008), melhora na digestibilidade de nutrientes, especialmente da proteína, e atuando diretamente no desempenho e composição química da carcaça dos animais (Lara-Flores et al., 2003; Waché et al., 2006). Na produção de organismos aquáticos, os probióticos mais utilizados são as bactérias (*Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*) e as leveduras *Saccharomyces* (Lara-Flores et al., 2003; Meurer et al., 2006, 2008), as quais são incorporadas nas dietas com o objetivo de melhorar a microbiota do intestino do animal (Nageswara & Babu, 2006; Sahu et al., 2008) e conseqüentemente a produtividade.

O intestino dos peixes é similar ao dos demais vertebrados, variando fisiologicamente e morfológicamente de acordo com as diferenciações dos hábitos alimentares (Fagbenro et al., 2000; Tengjaroenkul et al., 2000). Na região intestinal, ocorre a maior parte da absorção dos nutrientes da dieta e, portanto, qualquer alteração nessa estrutura poderá refletir em maior ou menor absorção intestinal. As vilosidades, as células caliciformes e a túnica muscular do intestino, são estruturas que normalmente sofrem alterações em função da qualidade e composição da dieta, assim como do perfil de microrganismos da microbiota intestinal (Kihara et al., 1995; Zhao et al., 1998; Hisano et al., 2006; Schwarz et al., 2011).

A levedura do álcool, *Saccharomyces cerevisiae*, quando utilizada como probiótico, pode desempenhar papel modulador na microbiota intestinal dos animais, colonizando o intestino dos peixes (Gatesoupe et al., 1999; Miranda, 2012) influenciando diretamente na estrutura do intestino, o que poderá provocar alterações nas vilosidades, número de células caliciformes e espessura da túnica muscular (Kihara et al., 1995 Hisano et al., 2006; Schwarz et al., 2011). Os enterócitos, presentes na mucosa das vilosidades intestinais são responsáveis pela absorção de nutrientes pelo intestino e, portanto, apresentam papel fundamental no crescimento e na saúde dos animais. Assim, o conhecimento da estrutura e do funcionamento do tubo digestório poderá ajudar a elucidar como a levedura do álcool atua sobre o desempenho e saúde dos peixes.

O lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae* é um peixe encontrado em grande parte do território nacional e vem se destacando na piscicultura de corte pela facilidade na produção de alevinos, aceitação de dietas comerciais (Souza & Andrade, 1983; Silva et al., 1983; Cotan et al., 2006) e a procura como isca viva, possuindo assim importância para o mercado brasileiro (Porto-Foresti et al., 2010). Desse modo, com o presente estudo objetivou-se avaliar o efeito da *S. cerevisiae* sobre a colonização e histomorfometria do intestino de lambaris-do-rabo-amarelo.

MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto é parte do projeto aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa CEUAP/UFV, processo nº 22/2013, estando de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e com a legislação vigente (Anexo 01).

Peixes e delineamento experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição de Peixes do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, em delineamento inteiramente casualizado com seis níveis de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0g kg⁻¹ de dieta) e cinco repetições. Juvenis de *Astyanax altiparanae* com peso médio de 1,89±0,10g foram distribuídos em 30 aquários circulares (65,0L de água), na densidade de 30 peixes por aquário (0,46 peixesL⁻¹). Os aquários foram dotados de aeração constante, filtro biológico e aquecedores ligados a termostatos que mantiveram a temperatura em 26°C. Em cada aquário foram colocados dois refúgios artificiais para reduzir o estresse dos peixes causado por eventuais brigas e/ou disputas por dominância entre os animais. Como refúgios, foram utilizados canos de PVC (3 polegadas) cortados ao meio, e uma estrutura confeccionada com sacos de nylon, semelhante ao sistema radicular de macrófita aquática. Todos os aquários foram cobertos com tela de nylon branca (2mm) para evitar a fuga dos peixes. O laboratório foi mantido em fotoperíodo de 12 horas.

Diariamente, as 08h00min, 11h00min, 14h00min e 17h00min, os peixes foram alimentados até a saciedade com as dietas-teste, durante 90 dias. Os parâmetros de oxigênio, pH e amônia foram aferidos semanalmente utilizando-se o Medidor

Multiparâmetros (modelo HI 9828, Hanna Instruments, Brasil) e quinzenalmente os aquários de todos os tratamentos foram sifonados para a retirada de fezes e manutenção das condições físico-químicas da água, que foram mantidos em: oxigênio dissolvido = $6,5 \pm 1,0 \text{ mg L}^{-1}$; pH = $6,5 \pm 0,3$; amônia entre 0,02 a $0,0 \text{ mg L}^{-1}$.

Ao final do período experimental sete peixes por repetição (35 por tratamento) foram coletados e eutanasiados com óleo de cravo (400 mg L^{-1} de água) para a extração da porção inicial do intestino para avaliação da colonização e histomorfometria intestinal dos peixes.

Dietas-teste

Foram formuladas seis dietas isoproteicas ($333,0 \text{ g}$ de proteína bruta kg^{-1} de dieta) e isoenergéticas ($4161,39 \text{ kcal}$ de energia bruta kg^{-1} de dieta) nas quais foi incluído o produto BIOSAF HR contendo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na concentração de $8 \times 10^9 \text{ UFC g}^{-1}$ nos níveis 0,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0 e $25,0 \text{ g}$ de levedura kg^{-1} de dieta (Tabela 1). As dietas-teste foram peletizadas, secas em estufa de ventilação forçada, a 30°C (para manter a viabilidade da levedura), trituradas em moinho manual e passadas em peneiras de diversas malhas para obter peletes de 0,5 a 1,5mm. Amostras das dietas-teste foram coletadas para análise quanto à composição química e para a verificação da viabilidade da levedura após as etapas de processamento. Para determinação do teor de proteína bruta, foi utilizado protocolo descrito por Silva & Queiroz (2002), extrato etéreo, matéria seca e cinzas de acordo com a AOAC (2000) (Tabela 1). Para a verificação da viabilidade da levedura, após as etapas de processamento, as dietas-teste foram maceradas em condições assépticas, prosseguindo-se a diluição seriada até 10^{-6} e plaqueado 0.1mL de cada diluição em duplicata, em meio BDA (Batata Dextrose Ágar), pH 5,6 acrescido de cloranfenicol (50 mg L^{-1}) e incubados a 30°C por 24 horas, para isolamento e contagem de leveduras no Laboratório de Fisiologia de Microrganismos do

Departamento de Microbiologia do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) (Tabela 2).

Tabela 1: Ingredientes, Formulação (g kg⁻¹) e composição química (base matéria natural) das dietas-teste utilizadas na alimentação de Lambaris-do-rabo amarelo *Astyanax altiparanae* para os diferentes níveis de inclusão da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Ingredientes	Níveis de inclusão da levedura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) na dieta					
	0,0	5,0	10,0	15,0	20,0	25,0
Farelo de soja	545,00	545,00	545,00	545,00	545,00	545,00
Glúten de milho	43,00	43,00	43,00	43,00	43,00	43,00
Farinha de peixe	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Levedura	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00	25,00
Fubá de milho	78,60	78,60	78,60	78,60	78,60	78,60
Farelo de trigo	150,70	150,70	150,70	150,70	150,70	150,70
Alginato	25,00	20,00	15,00	10,00	5,00	0,00
L-Lisina	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
DL-Metionina	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	59,00	59,00	59,00	59,00	59,00	59,00
Fosfato bicálcico	33,00	33,00	33,00	33,00	33,00	33,00
Sal comum	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Premix Vitam/min ¹	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
BHT ²	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Total	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00
Var\Níveis	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00	25,00
Umidade	77,30	74,80	74,40	69,70	73,20	68,20
Ex. Etéreo	84,50	92,20	88,30	93,20	89,40	93,00
Proteína	322,82	314,00	320,55	311,35	317,12	328,04
Cinza	88,50	88,00	79,20	86,90	85,50	85,20
Fib.Bruta	42,20	37,63	33,90	39,84	33,98	33,47

¹ Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000UI ; Vit. D3 ; 200.000UI ; Vit. E, 12.000mg ; Vit. K3, 2.400mg ; Vit. B1, 4.800mg ; Vit. B2, 4.800mg ; Vit. B6, 4.000mg; Vit. B12, 4.800mg; Ac. Fólico, 1.200mg; Pantotenato Ca, 12.000mg; Vit. C, 48.000mg; Biotina, 48mg; Colina, 65.000mg; Niacina, 24.000mg; Ferro, 10.000mg; Cobre, 6.000mg; Manganês, 4.000mg; Zinco, 6.000mg; Iodo, 20mg; Cobalto, 2mg; Selênio, 20mg.

² Butil hidroxi tolueno (antioxidante)

Tabela 2 Número de unidades formadoras de colônias (UFCs) da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) nas dietas-teste kg⁻¹ de dieta.

Níveis g kg ⁻¹	0,0	5,0	10,0	15,0	20,0	25,0
UFCs x 10 ⁹ kg ⁻¹	0,00	39,65	80,39	123,43	158,17	201,04

As dietas-teste foram acondicionadas em frascos plásticos, e mantidas em temperatura ambiente segundo recomendação do fabricante do produto (BIOSAF HR), para manutenção das células viáveis de levedura nas dietas-teste.

Avaliação histomorfométrica do intestino dos peixes

Os intestinos foram fixados em solução de Bouin, por 12 horas, em temperatura ambiente e em seguida desidratados em concentrações crescentes de etanol, cortados na porção inicial em fragmentos de aproximadamente 5mm e incluídos em 2-hidroxietil metacrilato (Historesin®; Leica). Durante a inclusão foi realizada a orientação dos fragmentos de intestino de maneira a se obter secções transversais e longitudinais da mesma amostra nos blocos de resina histológica sendo, posteriormente, seccionados na espessura de 3µm em micrótomo rotativo automático (Reichert-Jung, Alemanha) com navalha de vidro. Os cortes histológicos semiseriados foram coletados em intervalos de cinco cortes, correspondendo à distância de 15µm entre os mesmos. As secções obtidas foram colocadas em lâminas de vidro totalizando 15 secções por lâmina, que foram coradas com azul de toluidina-borato de sódio 1% e montadas com Entellan® (Merck). As preparações histológicas foram confeccionadas no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV. As imagens dos intestinos foram capturadas por microscopia de luz através de fotomicroscópio Olympus BX-50, com a objetiva de 10x e zoom de 1x, acoplado ao software de captura de imagens Q Capture e analisadas utilizando o programa Image-Pro Plus (Media Cybernetics), no Laboratório de Sistemática Molecular (Beagle) do Departamento de Biologia Animal da UFV. Para avaliação da histomorfometria dos intestinos foram realizadas as medidas dos seguintes parâmetros: altura da vilosidade (AV): medida entre a base da vilosidade (parte superior da túnica muscular) e o ápice da vilosidade; largura média da vilosidade (LV): média de três medidas da largura (de um lado ao outro) da vilosidade, sendo uma

na base da vilosidade (LVb), uma no meio (LVm) e outra na porção apical da vilosidade (LVa); espessura da túnica muscular (TM) (considerou-se a musculatura longitudinal e transversal do intestino para medida de espessura a túnica muscular); células caliciformes (CC) (considerou-se cada célula caliciforme como uma unidade) (Figura 1).

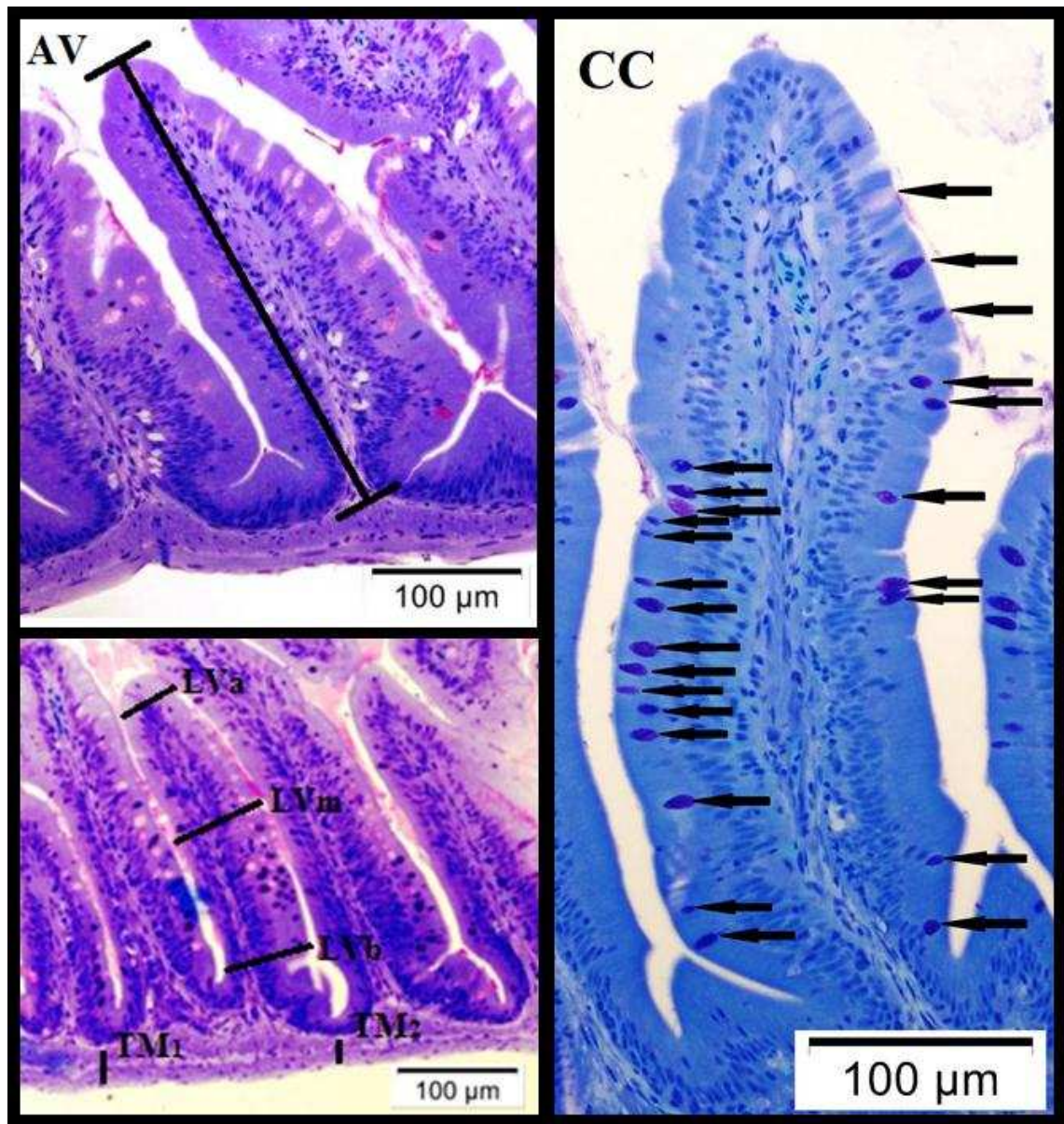


Figura 1: Fotomicrografias do epitélio intestinal de lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). AV (altura de vilosidade); TM1 e TM2 (túnica muscular); LVb (largura da base da vilosidade); LVm (largura média da vilosidade); LVa (largura do ápice da vilosidade); CC (células caliciformes – mostradas pelas setas). Coloração: azul de toluidina-borato de sódio 1%. Obj. 10x, zoom 1x.

Todas as medidas foram aferidas individualmente por duas pessoas para se reduzir o erro experimental. Com os dados da altura e largura das vilosidades intestinais calculou-se a área de superfície aparente das vilosidades (ÁreaV), pela seguinte fórmula: Área de superfície aparente das vilosidades (ÁreaV) = altura da vilosidade (AV) x largura média da vilosidade (LV) Iji et al. (2001).

Análises microbiológicas do tubo digestório

Amostras do intestino de dois peixes por tratamento foram coletadas e transferidas para microtubos de 1,5mL, contendo solução salina (08,5p v⁻¹ NaCl). Foi feito o isolamento e feita a contagem de leveduras das amostras no Laboratório de Fisiologia de Microrganismos do Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa (UFV). As amostras foram maceradas e diluídas de forma seriada até 10⁻⁶ e plaqueado 0,1mL de cada diluição em duplicata.

O material foi incubados a 30°C por 24 horas em meio BDA (Batata Dextrose Ágar), pH 5,6, acrescido de cloranfenicol (50mg L⁻¹). Foi quantificado o número de colônias por placa das amostras de leveduras após a incubação e feita a avaliação de densidade populacional através da equação: UFC mL⁻¹ (Unidades Formadoras de Colônia mL⁻¹) = Média do n° de colônias por placa x FD (fator de diluição) x Volume da alíquota⁻¹, sendo o FD o inverso da diluição onde se encontrou entre 25 e 300 colônias.

Análises estatísticas

A avaliação do efeito dos níveis de levedura nas dietas-teste sobre os parâmetros de histomorfometria intestinal foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA) (APENDICE A) e regressão polinomial ao nível de 10% de probabilidade, utilizando-se o software SAEG 9.1. A homogeneidade das variâncias foi avaliada por meio do teste

de Cochran. Para escolha do modelo de regressão foi considerado a significância dos coeficientes de regressão, a magnitude dos coeficientes de determinação, calculados em função da soma de quadrados da regressão x soma de quadrados de tratamentos⁻¹, bem como o comportamento das variáveis em estudo.

Análise da colonização do intestino pela levedura, foi feita pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de 10% de significância utilizando-se o programa estatístico StatPlus.

RESULTADOS

Foi observado efeito linear crescente ($P < 0,10$) da levedura apenas para o parâmetro área de superfície aparente das vilosidades (Tabela 3) (Figura 2). Nos parâmetros alturas de vilosidade (AV), espessura da túnica muscular (TM), largura média da vilosidade (LV), contagem de células caliciformes por vilosidade aferida (CC), não foram observados efeito ($P < 0,10$) dos níveis de levedura presentes nas dietas-teste (Tabela 3) dos lambaris-do-rabo-amarelo.

Foi observado crescimento da levedura em meio de cultura das amostras de intestino para os tratamentos 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0g kg⁻¹, confirmando a capacidade de colonização da levedura no intestino dos peixes.

Tabela 3 Médias das alturas de vilosidade, espessura da túnica muscular, largura média da vilosidade, número de células caliciformes por vilosidade e área de superfície aparente das vilosidades, do intestino juvenis de lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae* alimentados com diferentes níveis de inclusão da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Parâmetros	Níveis de inclusão de levedura nas dietas-teste (g kg ⁻¹)						CV(%)	P valor
	0,0	5,0	10,0	15,0	20,0	25,0		
AV (µm)	338,00	390,05	366,26	392,67	370,08	387,79	13,16	0,340
CC(por vilosidade)	16,04	18,56	16,67	14,63	19,64	17,93	25,76	0,278
TM (µm)	29,86	29,38	28,78	29,82	29,08	28,54	10,84	0,336
LV (µm)	118,61	124,59	110,35	115,63	123,04	124,19	11,34	0,573
ÁreaV (µm ²) ¹	39641,23	48076,80	40429,26	45344,85	45551,07	48146,08	12,54	0,092*

AV = altura de vilosidade

CC = número de células caliciformes

TM = espessura da túnica muscular

LV = largura média de vilosidade

ÁreaV = área de superfície aparente das vilosidades (AV x LV)

CV = Coeficiente de Variação

*Significativo pela análise de variância, teste F ($P < 0,10$). Significância das diferenças entre as médias foi determinada pela ANOVA seguida pela análise de regressão linear.

¹ Y = 204,31x + 42662 (R² = 0,377)

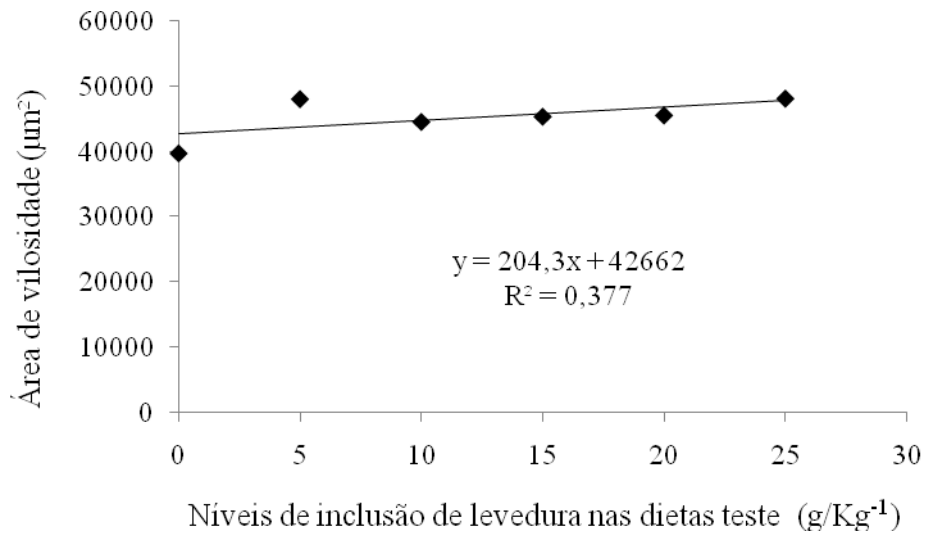


Figura 2: Efeito linear crescente para o parâmetro área de superfície aparente das vilosidades (altura de vilosidade x largura média de vilosidade) em função dos níveis de inclusão de levedura nas dietas-teste ($p < 0,10$).

DISCUSSÃO

O aumento da área de superfície aparente das vilosidades intestinais de lambaris-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae* alimentados com dietas contendo diferentes níveis da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, pode ser explicado pela ação probiótica da levedura. A *S. cerevisiae* tem a capacidade de se aderir aos sítios de ligação nos enterócitos reduzindo a colonização de bactérias prejudiciais no intestino pela exclusão competitiva entre a levedura e as bactérias indesejáveis (Furlan, 2005). Portanto, é possível que o aumento da área de superfície aparente das vilosidades intestinais seja uma resposta histomorfológica intestinal do lambari frente a colonização benéfica do intestino pela levedura, levando a melhorias na condição do epitélio intestinal e consequente na absorção de nutrientes pelos animais (Noga, 1995; Mello et al., 2013).

Em tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) alimentadas com 4.0g kg⁻¹ de *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*, também considerados probióticos, foi observado aumento na altura, e largura das vilosidades intestinais dos peixes (Mello et al., 2013) o que levou ao aumento da área de superfície aparente das vilosidades intestinais, concordando com os resultados desse trabalho. O aumento do perímetro das vilosidades intestinais também foi observado em tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com dietas contendo a parede celular de levedura *S. cerevisiae* (Hisano et al., 2006). Esses autores atribuíram o resultado à presença de nucleotídeos, nucleosídeos, e de alguns polissacarídeos da parede celular da levedura no epitélio intestinal dos peixes, atuando na diferenciação e crescimento das células do mesmo, uma vez que não foi utilizada a levedura como probiótico, mas como prebiótico.

Em alevinos tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) alimentadas com dietas contendo 3,0g kg⁻¹ do prebiótico mananoligossacarídeo (MOS) que é composto por parede celular da

levedura *S. cerevisiae* ou com dietas contendo $4,15 \times 10^{-7}$ UFC $^{-1}$ g de dieta do *Bacillus subtilis* foi observado aumento na altura das vilosidades intestinais nos animais alimentados com as dietas contendo os aditivos, indicando um possível aumento da área de superfície aparente das vilosidades intestinais Carvalho et al. (2011).

Estudos com lambaris-do-rabo-amarelo, alimentados com a levedura *S. cerevisiae*, mostraram melhoria da composição química da carcaça para os teores de proteína bruta, matéria seca e de energia bruta (Miranda, 2012), o que pode estar relacionado com a liberação de enzimas digestivas que auxiliam na digestão e absorção, aumentando a disponibilidade dos nutrientes da dieta como as vitaminas, os ácidos graxos e as proteínas (Lara-Flores et al., 2003; Waché et al., 2006; Gatesoupe, 2007; Ringø, 2008; Tinh et al., 2008). Outra possibilidade seria o aumento na absorção de nutrientes pelo aumento da área de superfície aparente das vilosidades intestinais como observado nesse experimento.

Dessa maneira, o efeito da adição da levedura *S. cerevisiae* em dietas para lambari-do-rabo-amarelo pode ser benéfico por aumentar a área de superfície aparente das vilosidades intestinais e, conseqüentemente, melhorar a absorção e retenção dos nutrientes, devendo ser levado em consideração por produtores e fabricantes de ração, com o objetivo de melhorar a nutrição e a saúde desses animais.

A colonização do intestino de lambaris-do-rabo-amarelo *A. altiparanae* pela levedura *S. cerevisiae*, comprovada pelas análises microbiológicas das amostras intestinais, concorda com Costa et al. (2004), que demonstraram a colonização do intestino da tilápia-do-nilo com levedura *S. cerevisiae* durante a fase de reversão sexual e Meurer et al (2007) que avaliou *S. cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia-do-nilo submetidos a desafio sanitário. A colonização do intestino de peixes por outros

organismos probióticos também foram observados por Andlid et al.,1995; Gildberg et al., 1997; Carnevali et al., 2004.

CONCLUSÃO

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* aumentou a área de superfície aparente das vilosidades intestinais em lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae*.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* colonizou o intestino do lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. - Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, 2, 17 ed, 2000.

Carvalho, J. V. De; Lira, A. D. De; Costa, C. S. P.; Moreira, E. L. T.; Pinto, L. F. B.; Abreu, R. D.; Albinati, R. C. B. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 12(1),176-187, 2011.

Andlid T, Vazquez-Juarez R, Gustafsson L. Yeast colonizing the intestine of rainbow trout, *Salmo gairdneri* and turbot, *Scophthalmus maximus*. Microb Ecol 30: 321–334, 1995.

Carnevali O, Zamponi MC, Sulpizio R, Rollo A, Nardi M, Orpianesi C, Silvi S, Caggiano M, Polzonetti AM, Cresci A. Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development. Aquacult. Int. 12:377-386, 2004.

Gildberg A, Mikkelsen H, Sandaker H, Ringo E. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus Morhua*). Hydrobiologia 352:279-285, 1997.

Costa, M. M. ; Boblinski, A. F. ; Hayashi, C. ; Meurer, F. ; Pietrobelli, L. ; Muller, M. Microflora intestinal de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração contendo probiótico(*Saccharomyces cerevisiae*). In: 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Campo Grande, MS, 2004.

Cotan, J.L.V.; Lanna, E.A.T.; Bomfim, M.A.D.; Donzele, J.L.; Ribeiro, F.B.; Serafini, M.A. Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari-tambuí. Brazilian Journal of Animal Science, 35(3), 634-640, 2006.

Fagbenro, O.; Adedire, C.O.; Ayotunde, E.O & Famine, E.O. Haematological profile, food composition and digestive enzyme assay in the gut of the African bony-tongue (*Clupisudis niloticus* (Cuvier 1829) (Osteoglossidae). Tropical Zoology, 13, 1-9, 2000.

Furlan, R.L. Avaliação e uso de pré e probióticos. In: Simpósio Brasil Sul De Avicultura, Anais, 6, 58-74, 2005,

Gatesoupe F.J. Live yeasts in the gut: Natural occurrence, dietary introduction, and their effects on fish health and development. *Aquaculture*, 267, 20-30, 2007.

Gatesoupe, F. J. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 14, 107-114, 2008.

Gatesoupe, F.J. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180, 147-165, 1999.

Hisano H.; Silva M. D. P.; Barros M. M.; Pezzato L. E.; Levedura íntegra e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 28(4), 311-318, 2006.

Iji, P.A., Saki, A.A. & Tivey, D.R. Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1186–1192, 2001.

Kihara, M.; Ohba, K.; Sakata, T. Trophic effect of dietary lactosucrose on intestinal túnica muscularis and utilization of this sugar by gut microbes in red seabream *Pagrus major*, a marine carnivorous teleost, under artificial rearing. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 112, 629-634, 1995.

Lara-Flores, M.; Olvera-Novoa, M.A.; Guzmán-Méndez, B.E.; López-Madrid, W. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 216, 193–201, 2003.

Li, P. & Gatlin, D.M. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*). *Aquaculture* 219, 681–692, 2003.

Li, P. & Gatlin, D.M. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™E influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*, 231, 445-456, 2004a.

Mello, H. de; Julieta R.E. de M.; Niza, I.G.; Moraes, F. R. de; Ozório, R.O.A.; Shimada, M.T.; Engracia Filho, J.R.; Claudiano, G.S. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(6),724-730, 2013.

Meurer, F.; Hayashi, C.; Costa, M. M da. da.; Freccia, A.; Mauerwerk, M. T. *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia-do-nilo submetidos a desafio sanitário. *Brazilian Journal of Animal Science*, 36, 1219-1224, 2007.

Meurer, F.; Hayashi, C.; Costa, M. M. da.; Mauerwerk, V. L.; Freccia, A. Utilização de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para tilápias-do-nilo durante o período de reversão sexual submetidas a um desafio sanitário. *Brazilian Journal of Animal Science*, 35(5), 1881-1886, 2006.

Meurer, F.; Hayashi, C.; Costa, M. M.; Mascioli, A. S.; Colpini, L. M. S.; Freccia, A. Levedura como probiótico na reversão sexual da tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 9(4), 804-812, 2008.

Miranda, L. T. V., Levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). Dissertação (Biologia Animal). Universidade Federal de Viçosa, 2012.

Nageswara, P. V.; Babu D. E. Probiotics as an alternative therapy to minimize or avoid antibiotics use in aquaculture. *Fishing Chimes*, 26(1), 12-114, 2006.

Noga E.J. *Fish Disease. Diagnosis and Treatment*. Mosby-Year Book, St Louis. 367p, 1995.

Nomura, I. O futuro da pesca e da aquicultura marinha no mundo *Ciência e Cultura*, 62(3), 28-32, 2010.

Porto-Foresti, F.; Castilho-Almeida, R.B.; Senhorini, J.A.; Foresti, F. *Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (Astyanax altiparanae)*. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. (Baldisserotto, B. & Gomes, L.C. ed), 2º ed, p 101-115. UFSM, Santa Maria, RS, BRASIL, 2010.

- Ringø, E. The ability of carnobacteria isolated from fish intestine to inhibit growth of fish pathogenic bacteria: a screening study. *Aquaculture*, 39, 171–180, 2008.
- Rotta, M. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Embrapa Pantanal, (Documento 53), 2003.
- Sahu, M. K.; Swarnakumar, N. S.; Sivakumar, K.; Thangaradjou, T.; Kannan, L. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. *Indian Journal of Microbiology*, 48(2), 299-308, 2008.
- Schwarz, K.K.; Furuya, W.M.; Natali, M.R.; Galdezi, M.C.; Lima, A.G. Patrícia. Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. *Brazilian Journal of Animal Science*, 40, 2634-2640, 2011.
- Silva, D. J. & Queiros, A. C. *Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 3ed., 235p. Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- Silva, J.M.F.; Andrade, D.R.; Teixeiras, S.M. Alimentação de lambari, *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) com excremento de suínos e ração. In: Reunião Anual para o Progresso da Ciência, 35, 736-737, 1983.
- Souza, J.R. & Andrade, D.R. Dados preliminares sobre nutrição de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1958), Pisces: Characidae. *Seiva*, 2, 81-83, 1983.
- Tengjaroenkul, B.; Smith B.J.; Caceci, T. Smith S. A. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 182, 317-327, 2000.
- Tinh, N.T.N.; Dierckens, K.; Sorgeloos, P.; Bossier, P.; A review of the functionality of probiotics in the larviculture food chain. *Marine Biotechnology*, 10, 1–12, 2008.
- Waché, Y.; Auffray, F.; Gatesoupe, F.J.; Zambonino, J.; Gayet, V.; Labbé, L.; Quantel, C. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and Rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture*, 258, 470–478, 2006.
- Zhao, F.; Okine, E.K.; Cheeseman, C.I. Glucose transport gene expression in lactating bovine gastrointestinal tract. *Animal Science*, 76, 2921-2929, 1998.

APENDICE

Análise de variância e coeficiente de variação para a regressão ($p < 0.10$).

ANOVA					
Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Probab
Devido a Regressão	1	9.13E+07	9.13E+07	3.04	0.0923
Independente	28	8.41E+08	3.00E+07		

Coeficiente de Variação = 12.54

Análise de variância para os níveis ($p < 0.10$).

ANOVA					
Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Probab
Tatamento	5	2.42E+08	4.84E+07	1.684	0.17675
Resíduo	24	6.90E+08	2.88E+07		

Coeficiente de Variação = 11.86

ANEXO

ANEXO 01: PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO
CEUAP/UFV

Campus Universitário – Viçosa, MG – 36570-900 – Telefone: (31) 3899.3275 – e-mail: ceuap@ufv.br – site: www.ceuap.ufv.br

Viçosa, 20 de dezembro de 2013

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa certifica que o **processo nº 22/2013**, intitulado “**Levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax ltiparanae*)**”, coordenado pelo **Prof(a). Ana Lúcia Salaro**, está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em **18/Dez/2013**.

CERTIFICATE

The Ethic Commission in Use of Production Animals of Universidade Federal de Viçosa certifies that the **process number 22/2013**, named “**Yeast *Saccharomyces cerevisiae* in diets for the tetra-yellow tail (*Astyanax altiparanae*)**”, coordinated by **Prof(a). Ana Lúcia Salaro**, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council of Animal Experimentation Control (CONCEA) and with actual Brazilian legislation, and was approved by this commission on **Dec, 18th, 2013**.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Mário Luiz Chizzotti', written over a horizontal line.

Mário Luiz Chizzotti
Coordenador da CEUAP/UFV