

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DOIS VIZINHOS BACHARELADO EM ZOOTECNIA

ROSELAINÉ DE SOUZA

**EFEITO DE PREBIÓTICOS SOBRE OS PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS E IMUNOLÓGICOS DE TILÁPIA DO NILO
(*OREOCHROMIS NILOTICUS*) EM ÉPOCA DE INVERNO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS
2022

ROSELAINÉ DE SOUZA

**EFEITO DE PREBIÓTICOS SOBRE OS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E
IMUNOLÓGICOS DE TILÁPIA DO NILO (*OREOCHORMIS NILOTICUS*) EM
ÉPOCA DE INVERNO.**

**EFFECT OF PREBIOTICS ON HEMATOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL
PARAMETERS OF NILE TILAPIA (*OREOCHORMIS NILOTICUS*) IN WINTER**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado ao Curso de Bacharelado em Zootecnia, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* Dois Vizinhos, como requisito parcial para obtenção do título de ZOOTECNISTA.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado

DOIS VIZINHOS
2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

ROSELAINÉ DE SOUZA

**EFEITO DE PREBIÓTICOS SOBRE OS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E
IMUNOLÓGICOS DE TILÁPIA DO NILO (*OREOCHORMIS NILOTICUS*) EM
ÉPOCA DE INVERNO.**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado ao Curso de Bacharelado em Zootecnia, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* Dois Vizinhos, como requisito parcial para obtenção do título de ZOOTECNISTA.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado

Data de aprovação: 10 de junho de 2022

Ricardo Yuji Sado
Dr. em Ciência Animal e Pastagens
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Valter Oshiro Vilela
Mestre em Biologia Parasitária
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Sabrina Endo Takahashi
Dra. em Zootecnia
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

DOIS VIZINHOS
2022

À minha família, dedico!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por nunca ter me deixado nessa caminhada.

Ao meu orientador, professor Ricardo Yuji Sado, por ter acreditado e me instruído durante meu período de estágio e também na orientação deste trabalho.

Sou grata aos colegas do grupo GPPís pela ajuda durante e após o período experimental.

A minha família que sempre estiveram ao meu lado e entendendo que nem sempre pude estar presente nas datas especiais.

RESUMO

SOUZA, Roselaine **Efeito de prebióticos sobre os parâmetros hematológicos e imunológicos de tilápia do Nilo (*Oreochormis niloticus*) em época de inverno.** Curso Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2022.

A piscicultura no sul de Brasil é uma atividade que está em grande expansão, em decorrência desse avanço ocorre o estresse influenciando negativamente o sistema imune dos peixes devido à intensificação na produção e à baixa temperatura na região Sul. Sendo assim, buscam-se alternativas com intuito de modular o sistema imune e aumentar a resistência ao estresse. Dessa forma, objetivou-se com esta pesquisa determinar o efeito de dietas suplementadas com mananoligossacarídeo e β -glucanas sobre parâmetros hematológicos e imunológicos de tilápia do Nilo (*Oreochormis niloticus*). Cento e oitenta animais foram pesados ($33,21 \pm 0,10$ g) e separados em lotes de 15 peixes, distribuídos em 12 hapas com volume de $0,6 \text{ m}^3$, em 3 tanques de alvenaria. As tilápias foram alimentadas por 90 dias com dieta controle, sem suplementação de prebióticos (DC), inclusão de 0,2% de MOS (DM), inclusão de 0,2% de β -glucanas (DG) e inclusão de 0,1% de MOS + 0,1% de β -glucanas (DMG), com três repetições em um delineamento inteiramente casualizado. Ao final do período experimental, não houve efeito ($P > 0,05$) dos tratamentos sobre os parâmetros hematológicos. No entanto, a concentração sérica de lisozima aumentou ($P < 0,05$) nos peixes alimentados com a dieta DM. Da mesma forma, a concentração de lisozima no muco também foi maior ($P < 0,05$) nos peixes alimentados com as dietas DM e DG quando comparados ao controle. A maior resposta na atividade respiratória dos leucócitos foi observada em peixes alimentados com DMG ($P < 0,05$). A dieta com 0,2% de MOS e 0,1% de MOS + 0,1% de β -glucanas apresentou capacidade imunomodulatória positivamente, a resposta imune inata.

Palavras-chave: Hematologia, Prebióticos, Piscicultura, Sistema Imunológico.

ABSTRACT

SOUZA, Roselaine **Effect of prebiotics on hematological and immunological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in winter.** Curso Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2022.

Fish farming in southern Brazil is an activity that is in great expansion, as a result of this progress, stress occurs, negatively influencing the immune system of fish due to the intensification of production and the low temperature in the South region. Therefore, alternatives are sought in order to modulate the immune system and increase resistance to stress. Thus, the objective of this research was to determine the effect of diets supplemented with mannan-oligosaccharide and β -glucans on hematological and immunological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). One hundred and eighty animals were weighed (33.21 ± 0.10 g) and separated into batches of 15 fish, distributed in 12 hapas with a volume of 0.6 m^3 , in 3 masonry tanks. The tilapia were fed for 90 days with a control diet, without prebiotic supplementation (DC), inclusion of 0.2% of MOS (DM), inclusion of 0.2% of β -glucans (DG) and inclusion of 0.1 % MOS + 0.1% β -glucans (DMG), with three replications in a completely randomized design. At the end of the experimental period, there was no effect ($P > 0.05$) of treatments on hematological parameters. However, serum lysozyme concentration increased ($P < 0.05$) in fish fed the DM diet. Likewise, the mucus lysozyme concentration was also higher ($P < 0.05$) in fish fed DM and DG diets when compared to the control. The greatest response in leukocyte respiratory activity was observed in fish fed with DMG ($P < 0.05$). The diet with 0.2% MOS and 0.1% MOS + 0.1% β -glucans showed positive immunomodulatory capacity, the non-specific immune response.

Keywords: Hematology.Prebiotics, Fish farming, Immune System

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	9
2.1 Geral	9
2.2 Específicos	9
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
3.1 Piscicultura e produção de tilápia-do-Nilo	9
3.2 Sistema Imunológico e hematologia de peixes	12
3.3 Efeito dos prebióticos na alimentação de peixes	14
4 MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1 Local do experimento	16
4.2 Formulação das dietas para Tilápia-de-Nilo	16
4.3 Arranjo experimental	18
4.4 Avaliação dos parâmetros hematológicos	19
4.6 Atividade respiratória dos leucócitos	20
4.7 Concentração de lisozima sérica e no muco	20
4.8 Análise estatística	21
5 RESULTADOS	21
5.1 Parâmetros hematológicos e imunológicos	21
5.2 Parâmetros Imunológicos	22
6 DISCUSSÃO	24
7 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura representa o terceiro maior sistema de produção de alimentos do mundo, impulsionado pelo aumento da demanda mundial por proteína de origem animal. Neste contexto, estamos observando o aumento na demanda pela produção de peixes (FAO, 2021). A piscicultura contribui para aliviar pressões da captura de organismos silvestres, solucionando problemas associados à sobrepesca de algumas espécies aquáticas.

A piscicultura, principalmente nos países em desenvolvimento, é uma atividade importante para melhorar a segurança alimentar e aumentar a renda dos produtores de organismos aquáticos. Existe a frequente busca de fontes acessíveis de proteína que criam a necessidade de um desenvolvimento rápido e urgente de novas cadeias produtivas de alimento (FAO, 2021). As pisciculturas atualmente utilizam métodos produtivos cada vez mais intensivos, alterando as condições de cultivo, no entanto, observou-se que o aumento da densidade populacional dos peixes está intimamente relacionado à ocorrência de problemas fisiológicos e doenças (SADO et al., 2014; SOARES et al., 2018).

Com a intensificação dos sistemas de produção de peixe, principalmente da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), trouxe novos desafios para a atividade, como o aumento de infecções bacterianas, que está se tornando um problema que necessita ser esclarecido e solucionado para a indústria de criação de tilápias. Surtos de infecções por *Streptococcus agalactiae* na criação de tilápias são responsáveis por mais de 75% da mortalidade dos peixes (ABRAM; DIXON; KATZENBACK, 2017; VELMURUGAN; CHAN; WENG, 2019).

A tilápia do Nilo é o peixe mais produzido no Brasil atualmente devido a sua resistência a diferentes ambientes climáticos que permitem que seu desenvolvimento ocorra em regiões subtropicais e temperadas (MAGOUZ et al., 2019; NOBREGA et al., 2020), também é uma espécie com alta adaptabilidade a sistemas intensivos de produção (HE et al., 2017; AMPHAN et al., 2019). No entanto, o estresse associado à sistemas intensivos, altera a homeostase dos peixes e reduz as respostas imunológicas (MAGNADÓTTIR, 2006; URIBE et al., 2011) e permite que o animal seja mais suscetível a manifestações de doenças (KIRON, 2012; SADO et al., 2014; SOARES et al., 2018;).

Neste contexto, é importante a adoção de medidas preventivas, como os aditivos alimentares, que possuam a capacidade de aumentar à resistência do peixe a doenças e auxiliar nas respostas fisiológicas às situações estressantes, por meio da modulação do sistema imunológico (RINGØ et al., 2010).

No Brasil, poucos são os trabalhos que contemplam o uso de mananoligossacarídeos

(MOS) em associação com β -glucanas e seus efeitos na estação de inverno. O β -glucano é um polímero de glicose com ligações β -glicosídicas (β -1,3; β -1,4; β -1,6) que ativa as células imunológicas do sistema inato (SONG et al., 2014), e são muito utilizadas em experimentos de imunoestimulação em peixes (AMPHAN et al., 2019). O MOS é um oligossacarídeo caracterizado como um complexo carboidrato derivado de proteínas glucomanas da parede celular das leveduras (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- O presente projeto se propôs a avaliar a suplementação dietética de prebióticos sobre a caracterização imunológica e hematológica da tilápia do Nilo em inverno.

2.2 Específicos

- Determinar o efeito dos aditivos sobre os parâmetros hematológicos e imunológicos da tilápia do Nilo submetida a estresse por frio;
- Fornecer subsídios para conhecer a ação do mananoligossacarídeo e β -glucanas e sua associação na nutrição e alimentação de peixes em condições de cultivo inverniais;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Piscicultura e produção de tilápia-do-Nilo

No Brasil em 2021 produziu-se 841.005 toneladas, crescimento de 4,7%, no entanto foi registrado um crescimento conforme a Peixe BR, acumula 45% de cultivos de peixes desde 2014, nos últimos anos é uma das atividades na produção animal com grande potencial de crescimento (PEIXEBR, 2022).

A produção de pescados é dividida entre pesca e aquicultura, sendo que esta última é a atividade que cultiva organismos aquáticos em ambientes controlados, como viveiros escavados e/ou em tanques-rede (SCHULTER; VIEIRA FILHO, 2018).

No Brasil o cultivo de organismos aquáticos, em sua predominância, são sistemas semi-intensivos (PEIXEBR, 2020), e possuem a capacidade de auxiliar no aumento da

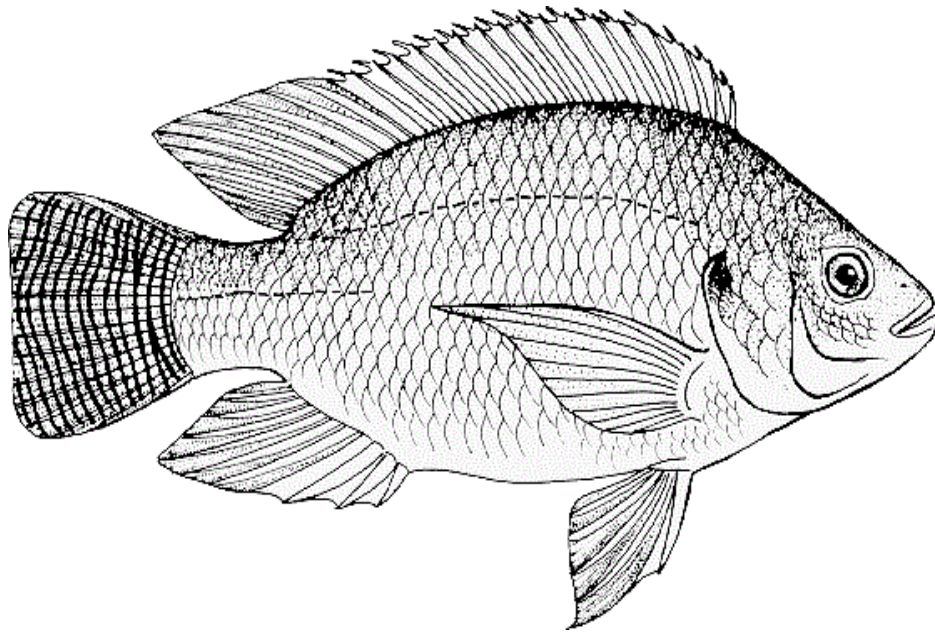
piscicultura mundial, com os sistemas intensivos e superintensivos, no entanto a alta densidade populacional no cultivo de peixes podem proporcionar riscos relacionados à sanidade (AQUACULTURE BRASIL, 2022). Dentre as espécies mais produzidas nos sistemas semi-intensivos está a tilápia do Nilo (*O. niloticus*).

Em 2020, a produção de tilápia cresceu 12,5% no Brasil registrando 486.155 toneladas, como esse resultado a tilápia ganhou ainda mais o cenário nacional. Com o aumento da sua produção total no ano de 2020 com 60,6% sendo que em 2019 foram 57% (PEIXEBR, 2020). A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) pertencente à família Cichlidae, é um peixe teleósteo, oriundo da África e foi distribuída pelo continente americano, Oceania, sul da Índia, nas regiões Sul e Sudeste da Ásia. São de espécie onívora, aceita muito bem todos os tipos de alimento, de fácil manejo em todas as fases de cultivo e domínio da reprodução em cultivos (FAO 2021).

A tilápia-do-Nilo é uma espécie que apresenta resistência às doenças, o que permite sua criação em grande densidade, ótima adaptação em diferentes sistemas de manejo e rápido crescimento, com alta qualidade de carne (HE *et al.*, 2017; NOBREGA *et al.*, 2020). Destaca-se das demais espécies a ausência de espinhos musculares em “Y”, alto rendimento do filé (aproximadamente 33%), carne branca, textura firme e alto valor nutricional (MEURER *et al.*, 2003; MARTÍN-SÁNCHEZ *et al.*, 2009; OLIVEIRA FILHO *et al.*, 2010).

Por apresentar estas características, quando comparada a outras espécies cultivadas, possui maior produtividade, baixo custo de produção em menos tempo de cultivo, assim o processo de produção vem se intensificando na piscicultura. Conseqüentemente a intensificação pode ocasionar um ambiente comprometedor aos peixes, onde as pressões causadas pelo constante manejo, má qualidade de água, alta densidade de estocagem e o transporte, podem ocasionar estresse ao animal, levando ao aparecimento de doenças aos animais (RINGØ *et al.*, 2010).

Figura 1 – Tilápia do Nilo (*O. niloticus*).



Fonte: FAO (http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/en)

As mudanças climáticas ou eventos climáticos extremos tendem a afetar as regiões subtropicais e tropicais devido a grande variação térmica (CLUSELLA-TRULLAS et al., 2011; KNUTSON et al., 2010) países com como a China e Tailândia, que são grandes produtores de tilápia, enfrentam variações de temperatura durante o período do cultivo (CHENG et al., 2017). Embora seja uma espécie tropical, os estados que mais produzem a tilápia no Brasil possuem um clima subtropical, com variações de temperatura consideráveis entre as estações (IBGE, 2017). A Tilápia do Nilo é afetada por temperaturas frias sub-ótimas, que diminuem as funções fisiológicas, causando inibição do crescimento, e maior susceptibilidade a doenças devido a alterações no sistema imunológico dos peixes (HE et al., 2017; NOBREGA et al., 2020).

Os organismos aquáticos possuem respostas fisiológicas a agentes estressores ambientais, essa reação do organismo pode ser dividida em: respostas primárias (resposta neuroendócrina e liberação de corticosteróides e catecolaminas), respostas secundárias (alterações metabólicas, celulares, hematológicas, osmorregulatórias e imunológicas) e respostas terciárias (respostas fisiológica e comportamental do animal em si, como mudanças no desempenho, reprodução, alimentação e migração) (BARTON, 2002; DONALDSON et al., 2008; MAZEAUD et al., 1977).

3.2 Sistema Imunológico e hematologia de peixes

Em geral, todos os organismos, e os peixes em particular, sempre buscam o equilíbrio corporal, com os sistemas metabólico, sanguíneo e imunológico trabalhando em harmonia para proteger os peixes do estresse ambiental e danos externos, e permitir um desempenho adequado (LANGEVIN et al., 2013). Como o aumento na produção de peixes, devido às condições de manejo intenso acaba interferindo no estado fisiológico, aumentando as doenças e agentes estressores comprometendo os mecanismos de defesa do peixe (RINGØ et al., 2010).

Considerando o monitoramento da saúde dos peixes nos sistemas de produção, parâmetros hematológicos podem ser utilizados como biomarcadores para este fim.

A hematologia é uma importante ferramenta para identificar o estado de saúde de diferentes organismos, tanto em condições fisiológicas básicas quanto em condições patológicas e nutricionais, pois o sangue reflete de forma rápida e eficiente as mudanças que ocorrem neles (BURGOS-ACEVES; LIONETTI; FAGGIO, 2019).

O tecido sanguíneo interage com outros tecidos do corpo para ajudar a desempenhar funções importantes como: transporte de gases, excretas e nutrientes, auxilia na regulação osmótica e na defesa dos organismos. O sangue de peixe é composto por variados tipos de células, como glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas. As hemácias têm a função de transportar oxigênio e gás carbônico na circulação e são as células mais numerosas do sangue (RANZANI-PAIVA et al., 2013).

A análise hematológica é uma ferramenta importante e confiável para controlar a saúde e diagnosticar doenças. O método de análise utilizado com maior frequência é a contagem visual de células em uma câmara de Neubauer (CHEN et al., 2019). Os valores específicos do sangue podem fornecer informações importantes para o diagnóstico de doenças em peixes. O sangue é constituído por três tipos de glóbulos: eritrócitos, trombócitos e leucócitos (monócitos, linfócitos e neutrófilos). Os eritrócitos são as células do sangue que são mais abundantes, tem um núcleo oval central, semelhante ao formato da célula, a porcentagem dessas células em relação ao volume total de sangue é chamada de hematócrito (RANZANI-PAIVA, et al., 2013).

O sistema imune é formado por células, tecidos e componentes solúveis que reconhecem, atacam e destroem agentes indesejados que possam colocar em perigo a saúde do peixe, por meio de dois mecanismos funcionais: a resposta inata e a resposta adaptativa (HOSEINIFAR et al., 2015; WANG et al., 2017).

A resposta imune dos peixes a estressores externos é muito semelhante à de outros vertebrados. O sistema imunológico consiste em duas partes: o sistema imunológico inato (não específico) e o adquirido (específico). O sistema imune não específico é considerado como a primeira linha de defesa dos peixes, e inclui a imunidade celular (células fagocíticas, neutrófilos, linfócitos e *natural killer*), e humoral (lisozima, imunoglobulinas, moléculas complemento e hemolisina) (WANG et al., 2017). Os granulócitos são o primeiro tipo de célula responsável pela destruição de patógenos, por outro lado, as células remanescentes patogênicas e os restos celulares são fagocitados pelos macrófagos (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014). A resposta imune celular dos peixes desencadeia a produção de células linfóides (hematopoiese), que resulta na formação e diferenciação de células como eritrócitos, granulócitos, monócitos, linfócitos e trombócitos (CHETTRI et al., 2011).

Os trombócitos são células ovais, com um grande núcleo central e um pequeno citoplasma, sua porcentagem no sangue periférico varia entre 70 e 13% da contagem total de leucócitos, dependendo da espécie (KUMAR, 2016), também têm capacidade fagocitária, além da função de coagulação (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014). Os monócitos são células grandes, com núcleo ovóide, em forma de rim ou ferradura que ocupa cerca de um terço da célula, seu citoplasma contém pequenos grânulos dispersos e desempenham a função fagocitária (KUMAR, 2016).

Os linfócitos são o tipo mais comum de leucócitos no sangue do teleosteo, representando até 85% do total de leucócitos, excluindo os trombócitos. Dois tipos de linfócitos são identificados como linfócitos grandes e pequenos, sempre redondos ou ovais e levemente irregulares, com uma fina borda do citoplasma em torno de um núcleo grande (KUMAR, 2016). Os neutrófilos são células polimorfonucleares encontradas no sangue, tecidos linfóides e na cavidade peritoneal (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014). Frequentemente, o neutrófilo é grande, com formato esférico, pêra ou elipse irregular e núcleo geralmente ovóide e excêntrico. Os eosinófilos são raramente observados no sangue periférico, sendo redondos ou quase redondos e com presença de grânulos esféricos (KUMAR, 2016). Os eosinófilos são distribuídos pelo tecido conjuntivo, principalmente no trato gastrointestinal e na corrente sanguínea e causam degranulação quando há infestações por parasitas. (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014).

As principais células envolvidas na fagocitose em peixes são monócitos, eosinófilos neutrófilos e macrófagos, essas células removem bactérias principalmente pela produção de espécies reativas de oxigênio durante um surto respiratório, em um mecanismo denominado como *burst* oxidativo (URIBE et al., 2011).

O sistema inato também atua através de compostos solúveis nos líquidos corpóreos como muco e soro (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014), e impedem a invasão dos patógenos com a produção de proteína e citocinas, fagocitose, e ação do sistema complemento (URIBE et al., 2011), além dos compostos humorais. Os componentes humorais inatos como proteínas, lectinas, lisozima (SOARES et al., 2018), e parâmetros hematológicos (FAZIO, 2019), são utilizados como indicadores da condição física e do surto de doenças de peixes. Por tanto para análise de eficiência do uso de imunomoduladores, principalmente aqueles de fontes naturais, como os prebióticos.

3.3 Efeito dos prebióticos na alimentação de peixes

Aditivos alimentares potenciais como os probióticos, prebióticos e simbióticos, podem ser incorporados na dieta para melhora significativa do estado de saúde (morfológico e microbiano) do intestino do animal. (SELIM & REDA 2015).

Os prebióticos são carboidratos de cadeia curta não digerível. Dentre eles, os mais utilizados na aquicultura são os frutoligosacarídeos (FOS), galactooligosacarídeos (GOS), xilooligosacarídeos (XOS), os mananoligosacarídeos (MOS), os quais melhoram a saúde animal por meio da modulação da microbiota do trato gastrointestinal (NAWAZ et al., 2018). Outros prebióticos como as glucanas, têm sido amplamente usados na nutrição de animais aquáticos como imunoestimulantes (RINGO ET AL., 2010; TA'TI ET AL., 2011).

Os prebióticos melhoram o desempenho zootécnico de peixes e a eficiência alimentar, ao estimular as atividades enzimáticas digestivas e alterando a morfologia intestinal do animal (RINGO ET AL., 2010; TA'TI ET AL., 2011). Irianto & Austin (2002) também verificaram que os prebióticos auxiliam no equilíbrio e absorção de ácidos graxos essenciais que aumentam a eficiência alimentar.

Portanto os prebióticos eles são definidos como aditivos alimentares fermentados seletivamente por microrganismos intestinais, que aumentam os processos metabólicos bacterianos e que resultam na modulação da microbiota, sendo assim fornecendo vários benefícios na saúde e bem estar do peixe, e que inibe a proliferação de bactérias patogênicas (MONTALBAN-ARQUES et al., 2015).

Os microrganismos como Bacteroides, Bifidobacterium e Lactobacillus são os principais produtores da fermentação dos prebióticos (DAS; MONDAL; HAQUE, 2017). Alguns compostos como polissacarídeos (glucanas, inulina e quitosanas) e os oligossacarídeos (oligofruktose, MOS, FOS, GOS ou XOS) são usados como moduladores na

piscicultura (SONG et al., 2014). Dentre eles, MOS e β -glucanas são os principais prebióticos.

O MOS é um oligossacarídeo caracterizado como um complexo carboidrato derivado de proteínas glucomanas encontrado na seção externa da parede das leveduras, correspondendo a aproximadamente 40% dessa estrutura celular (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014), sendo que a maioria dos produtos MOS testados no setor da piscicultura derivam da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (TORRECILLAS; MONTERO; IZQUIERDO, 2014).

Em um estudo com Tilápias do Nilo, foram constatados diferentes níveis de inclusão de MOS (0, 2, 4, 6, 8 e 10 g kg⁻¹) não prejudicou consideravelmente os parâmetros hematológicos, apesar disso, diminuiu o consumo alimentar quando nível de MOS aumentou (SADO; BICUDO; CYRINO; 2008).

Dieta suplementada com MOS (0,06% e 0,08%) por 60 dias, deu um resultado positivo nos parâmetros hematológicos (Ht, VCM, eritrócitos, leucócitos e monócitos) e imunológicos (lisozima e burst oxidativo) quando observado a comparação a dieta controle, trazendo efeitos positivos para a saúde dos peixes, por tanto, depois de um desafio bacteriano com lipopolissacarídeos, entre as dietas testadas não houve diferença aos parâmetros descritos anteriormente (HA et al., 2017).

Os efeitos da suplementação alimentar com β -glucanas em tilápias do Nilo é pesquisado amplamente. O uso do aditivo alimentar β -glucanas de dois níveis (0,1% e 0,2%) fornecida durante 21 dias modulou significativamente respostas inflamatórias, de estresse e genes relacionados ao sistema imunológico após desafio bacteriano com *Streptococcus iniae*, quando comparados ao tratamento controle (SALAH; EL NAHAS; MAHMOUD, 2017).

Tilápia do Nilo suplementada com dieta usando aditivos de 0,1% de β -glucanas por 6 semanas ajudou na eficiência alimentar no ganho de peso, alimentadas com a dieta controle, e a dieta administrada com β -glucanas por 4 semanas logo após mais 2 semanas de dieta basal aumenta positivamente a produção de EROs pelos leucócitos polimorfonucleares em comparação com tilápias alimentadas com a dieta de controle. Depois de 6 semanas da suplementação, as tilápias foram desafiadas com *S. iniae*, porém, sem efeitos na sobrevivência à infecção entre os tratamentos (WELKER et al., 2012).

Quando submetidas tilápia do Nilo a ação conjunta dos dois prebióticos como: MOS e β -glucanas na suplementação submetidas a diferentes condições de estresse teve efeito benéfico no seu desempenho produtivo, no sistema imunológico inato e obteve aumento na sobrevivência após infecções microbianas por *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus gravieae*,

Aeromonas hydrophila ou *S. iniae* (SELIM; REDA, 2015; ABU-ELALA et al., 2018; CHEN et al., 2019).

Por tanto, a utilização do MOS associado com β -glucanas com o nível de inclusão de 0,2% durante 60 dias, não houve efeito no desempenho produtivo de tilápias do Nilo, submetidas em condições de baixa temperatura em relação do ideal ($22,1 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$) (GARCIA; SANTOS; MORAES, 2011). O estresse em tilápia do Nilo sob baixa temperatura por curtos períodos de tempo foi estudado, após a suplementação com uma dieta teste (AP: 0,1% de β -glucanas e 0,6% de Vitamina C) e o controle durante 45 dias, para determinar o melhor período de administração (7 dias AP + 38 dias controle, 15 dias AP + 30 dias controle, 30 dias AP + 15 dias controle e 45 dias AP) das dietas.

Os peixes mantidos a temperatura de 23°C durante o período de alimentação, foram submetidos a redução gradual na temperatura da água até os 14°C e mantida por 4 dias, concluindo que as respostas hematológicas e bioquímicas dos peixes melhoraram com pelo menos 15 dias alimentação com a dieta teste (BARROS et al., 2014). O uso de misturas prebióticas como o MOS com β -glucanas têm potencial para aumentar o desempenho da tilápia do Nilo em baixa temperatura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição e Sanidades de Peixes na Unidade de Ensino de Pesquisa de Piscicultura (UNEPE-Piscicultura) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos. Este estudo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (protocolo nº 2016-003).

4.2 Formulação das dietas para Tilápia-de-Nilo

A formulação da ração foi confeccionada no laboratório de Ensino e Pesquisa em Piscicultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos. As dietas foram formuladas para controle (0%), MOS (0,2%), β -glucanas (0,2%), ou MOS (0,1%) + β -glucanas (0,1%) (Tabela 1). Os ingredientes foram triturados em moinho MCS 280, para obtenção do tamanho de partícula de 0,3 mm e a seguir pesados e misturados, sendo

processados em uma extrusora laboratorial, com capacidade de 40 kg h⁻¹, para fabricação de extrusado de 2 mm de diâmetro. As dietas foram secas em estufa de ventilação forçada a 40°C por 24 h e armazenadas a -5°C, até o momento do uso.

Tabela 1 – Formulação das rações experimentais com suplemento de prebióticos para tilápia do Nilo.

Tratamentos (%)				
Ingredientes	DC	DG	DM	DMG
Farinha de vísceras	33,81	33,81	33,81	33,81
Farelo de soja 46,87%	28,60	28,60	28,60	28,60
Milho 7,88%	25,74	25,54	25,54	25,54
Farelo de trigo	10,00	10,00	10,00	10,00
Óleo de soja	0,83	0,83	0,83	0,83
MOS ^a	-	-	0,20	0,10
β -glucanas ^a	-	0,20	-	0,10
Sup. Vitamina/mineral ^b	1,00	1,00	1,00	1,00
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

Composição Proximal Estimada^c

Fração	DC	DG	DM	DMG	Média ± DP
MS %	91,28	91,74	91,77	91,29	91,52±0,24
PB %	39,82	40,00	40,05	40,36	40,06±0,19
ED kcal/kg	3.539,01	3.531,82	3.530,80	3.536,98	3.534,65±3,44
EE %	7,33	7,33	7,33	7,33	7,33±0,00
ENN %	42,28	42,17	41,96	41,42	41,96±0,33
FB %	2,54	2,19	2,30	2,65	2,42±0,19
MM %	8,02	8,31	8,36	8,24	8,23±0,13

Fonte: Autoria própria.

Composição mineral-vitáminica (Tectron, Toledo - PR, Brasil) kg dieta – 1: vitamina A: 1.000.000UI, vitamina D3: 500.000UI, vitamina E: 20.000UI, vitamina K3: 500mg, vitamina B1: 1.900 mg, vitamina B2: 2.000 mg, vitamina B6: 2.400 mg, vitamina B12: 3.500 mg, niacina: 5.000 mg, ácido pantotênico: 4.000 mg, ácido fólico: 200 mg, biotina: 40 mg, vitamina C: 25g, colina: 100.000 mg, selênio: 70 mg, ferro: 12,5 g, cobre: 2.000 mg, manganês: 7.500 mg, zinco: 25 g, iodo: 200 mg, BHT: 300 mg. ^c Analisado de acordo com

AOAC (2000). Matéria seca (MS), Proteína bruta (PB), Energia digestível (ED), Extrato etéreo (EE), Extrato não nitrogenado (ENN), Fibra bruta (FB), Matéria mineral (MM), Hidroxitolueno Butilado (BHT), Desvio padrão (DP). ^a Composição 1,3/1,6 β -glucanas purificadas (Macrogard) e mananoligossacarídeos.

4.3 Arranjo experimental

Foram utilizadas 180 tilápias, adquiridas na piscicultura comercial. Os peixes passaram por um período de aclimação ao ambiente, com duração de uma semana e foram alimentados com duas refeições diárias (09h00m e 17h00m) com a dieta controle. No início do experimento, após 7 dias que foi o período de aclimação, as tilápias foram anestesiadas em solução alcoólica de benzocaína (1:10.000), pesadas separadas em lotes ($33,21 \pm 0,10$ g) distribuídos em 12 hapas com volume de $0,6 \text{ m}^3$, alocadas 15 tilápias cada hapa em 3 tanques de alvenaria (4 hapas em cada).

As tilápias foram alimentadas duas vezes ao dia, até apresentarem saciedade, durante 90 dias. Com as seguintes dietas: Dieta controle, sem suplementação de prebióticos (DC), inclusão de 0,2% de MOS (DM), inclusão de 0,2% de β -glucanas (DG) e inclusão de 0,1% de MOS + 0,1% de β -glucanas (DMG), com três repetições em um delineamento inteiramente casualizado. No final do experimento, foi feito um jejum de 24 horas, os juvenis de tilápia do Nilo foram sedados com benzocaína (1:10.000), em seguida feito biometria e também coleta do material biológico.

Os parâmetros de qualidade de água (oxigênio dissolvido, temperatura, pH e amônia total) foram monitorados durante o período experimental. Os tanques foram equipados com entradas de água com fluxo contínuo, no período experimental, cada um dos tanques continha válvulas para controle individual, sempre permitindo a troca de água diariamente com aproximação de 38%.

O pH da água foi utilizado pHmetro de bancada (mPA 210,0 LUCADAMA, São José do Rio Preto, SP, Brasil) e também com oxímetro, verificado oxigênio dissolvido (OD) (HI 98193, HANNA Instruments, São Paulo, SP, Brasil) este monitorados todos dias do experimento, resultando em $7,75 \pm 0,496, 42 \pm 0,67 \text{ mg L}^{-1}$, foi observado a amônia total semanalmente utilizando kit colorimétrico Labcon (Alcon®, Camboriú, SC, Brasil), na concentração de $0,006 \pm 0,005 \text{ ppm}$, como esses parâmetros observados para espécie na faixa aceitável (EL-SAYED, 2020a). foi registrada a temperatura da água em $18,32 \pm 1,83^\circ\text{C}$ durante o período do experimento que foi de 90 dias.

4.4 Avaliação dos parâmetros hematológicos

Para avaliação dos parâmetros hematológicos foi coletado o sangue dos peixes por meio de punção do vaso caudal utilizando-se seringas plásticas descartáveis de 3 mL, após colocadas as amostras em tubos de eppendorf com EDTA. Foram avaliados os seguintes indicadores, estimativas da concentração da hemoglobina, contagem total de eritrócitos, valor do hematócrito, contagem total dos trombócitos e leucócitos, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média.

Para a estimativa da concentração da hemoglobina foi utilizado o método da cianometahemoglobina (BLAXHALL & DAISLEY, 1973) em que 0,02 mL (20µL) de sangue foi diluído em 5mL do reagente de cor da hemoglobina em seguida depois de 10 min a amostra será centrifugada, a 10.000 g por 15 min para sedimentação do núcleo dos eritrócitos, o sobrenadante recolhido para leitura da absorbância em espectrofotômetro, no comprimento de onda 540 nm e os resultados expressos em g/100 mL.

A contagem de eritrócitos foi obtida na câmara de Neubauer, na solução de formol citrato. Valor do hematócrito utilizado em amostras sanguíneas homogeneizadas e introduzidas em capilares para microhematócrito e uma das extremidades do capilar foi selada. Os capilares foram centrifugados por 5 minutos a 10.000 x g em centrífuga de microhematocrito e a avaliação foram feita com auxílio da tabela de microhematócrito e expressa como Vol. eritrócitos /100 cm³.

Contagem total de leucócitos e trombócitos pelo método indireto utilizado as seguintes fórmulas:

$$\text{Leucócitos } \mu\text{l}^{-1} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ leucócitos} * \text{Número de eritrócitos } \mu\text{l}^{-1}}{2000 \text{ eritrócitos na extensão sanguínea}}$$

$$\text{Trombócitos } \mu\text{l}^{-1} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ trombócitos} * \text{Número de eritrócitos } \mu\text{l}^{-1}}{2000 \text{ eritrócitos na extensão sanguínea}}$$

As variáveis hematimétricas foi determinadas de acordo com Wintrobe (1934), volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média pelos seguintes cálculos:

$$\text{VCM} = \frac{\text{Ht} * 10}{\text{Número de eritrocitos}}$$

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hb} * 10}{\text{Número de eritrocitos}}$$

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hb} * 10}{\text{Ht}}$$

4.5 Avaliação de parâmetros imunológicos

Para as avaliações dos parâmetros imunológicos das tilápias foram realizadas coletas de sangue por meio de punção do vaso caudal, utilizando-se seringa plástica e agulhas descartáveis sem anticoagulantes e separados em microtubos. As amostras de sangue com heparina ficaram em temperatura ambiente durante 2 horas e centrifugadas (600 g, 10 minutos) onde foi obtido plasma.

4.6 Atividade respiratória dos leucócitos

A determinação da atividade respiratória dos leucócitos foi obtida pelo método (BILLER-TAKAHASHI et al., 2013). O método consiste na determinação das espécies reativas de oxigênio produzidos no *burst* oxidativo por ensaio colorimétrico baseado na redução do corante *nitroblue tetrazolium* (NBT) que forma um precipitado de material insolúvel com coloração azul escuro no interior dos fagócitos, denominados grânulos de formazan (KLEIN, 1990).

Para dosagem do precipitado 0,1 mL do sangue total com heparina foi adicionado a 0,1 mL de *nitroblue tetrazolium* (NBT, Sigma, St Louis, MO, USA). A solução foi homogeneizada e incubada por 30 minutos a 25°C. Após incubação, 50 µL da suspensão homogeneizada foram colocados em um tubo de vidro com 1,0 mL de N, N-dimetil formamida (DMF, Sigma, St Louis, MO, USA) e centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos. Em seguida foi realizada a leitura da absorbância da solução em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540 nm.

4.7 Concentração de lisozima sérica e no muco

Para determinar a concentração de lisozima sérica foi medida por ensaio turbidimétrico, segundo ABREU et al. (2009), por lise de uma suspensão de *Micrococcus lysodeikticus* L6876 (Sigma, St Louis, MO, USA), após a extração do soro das amostras (centrifugadas por 10 min a 600 rpm). Os níveis séricos de lisozima ($\mu\text{g mL}^{-1}$) foram determinados pela equação de regressão linear ($X = (Y + 0,0003) / 0,0002$ com coeficiente de determinação = 0,9051) da curva de calibração da lisozima (curva padrão de calibração pela quantificação das diferenças das densidades ópticas iniciais e finais). A redução da densidade óptica (ΔDO) em 450 nm foi avaliada entre 0,5 e 5,0 minutos a 26°C.

Na concentração de lisozima no muco, foi utilizado o protocolo proposto por ROSS e MOLDEUS (1991). O extrato com muco foi transferido para tubos plásticos (50 mL), congelados a - 20°C e então liofilizados para posterior análise da concentração de lisozima do muco. O extrato do muco liofilizado foi ressuspenso em 5 mL de tampão fosfato e seguiu o mesmo procedimento da análise realizada para determinar a concentração de lisozima sérica.

4.8 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos e avaliados pelos testes de normalidade e homogeneidade (*Shapiro-Wilk* e *Bartlett*, respectivamente), quando não apresentaram normalidade os dados foram transformados para que ambas as premissas fossem satisfeitas foram transformados com \log_{10} , sendo, então, submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando se verificou diferenças significativas, as análises passaram pelo teste de Tukey, considerando um intervalo de confiança de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Parâmetros hematológicos e imunológicos

Os resultados encontram-se na tabela 2 não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os parâmetros hematológicos de tilápia do Nilo alimentados com suplementação de prebióticos por 90 dias de experimentação.

Tabela 2 – Média e desvio padrão do eritrograma, leucograma, trombograma e parâmetros bioquímicos da tilápia do Nilo (*O. niloticus*) suplementada com prebióticos por 90 dias.

Parâmetros	Tratamentos				P-valor
	DC	DM	DG	DMG	
Eritrograma					
Er (10 ⁶ µL ⁻¹)	2,18 ± 0,31	2,23 ± 0,17	2,41 ± 0,52	2,29 ± 0,45	0,5577
Ht (%)	24,64 ± 4,11	27,64 ± 4,41	26,44 ± 5,98	24,16 ± 0,06	0,3182
Hb (g dL ⁻¹)	7,69 ± 2,13	7,80 ± 2,32	7,70 ± 2,32	7,91 ± 2,85	0,9956
VCM (fL)	113,69 ± 15,05	119,15 ± 16,55	111,52 ± 24,06	105,55 ± 10,95	0,291
HCM (pg)	35,98 ± 10,05	33,02 ± 8,83	31,99 ± 9,97	33,84 ± 7,58	0,7705
CHCM (g dL ⁻¹)	31,30 ± 6,79	28,04 ± 8,50	32,17 ± 13,36	32,65 ± 9,49	0,7072
Leucograma e Trombograma (10³ µL⁻¹)					
Leucócitos	57,40 ± 15,39	57,13 ± 20,83	52,30 ± 13,15	57,09 ± 16,72	0,8836
Trombócitos	64,38 ± 9,83	64,36 ± 8,99	66,08 ± 14,42	66,47 ± 13,14	0,9706
Linfócitos	41,15 ± 13,08	45,60 ± 14,78	41,02 ± 11,28	46,37 ± 13,65	0,7008
Neutrófilos	10,56 ± 3,17	7,63 ± 4,00	7,68 ± 1,97	8,14 ± 4,19	0,1701
Monócitos	5,67 ± 2,07	3,91 ± 2,44	3,94 ± 1,61	4,19 ± 1,92	0,1064
Bioquímica sanguínea					
PPT (g dL ⁻¹)	5,51 ± 0,43	5,70 ± 0,39	5,79 ± 0,31	5,32 ± 0,40	0,2987
Glicose(mg dL ⁻¹)	44,69 ± 13,63	52,24 ± 12,93	44,96 ± 13,07	52,05 ± 9,45	0,4885

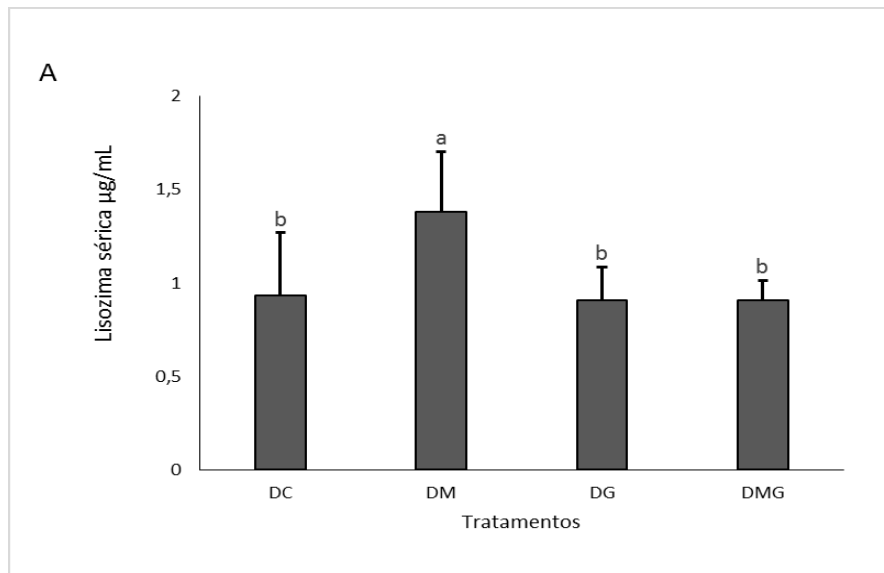
Fonte: Autoria própria. Dieta controle (DC), dieta com 0,2% MOS (DM), dieta com 0,2% β-glucanas (DG), dieta com 0,1% MOS e 0,1% β-glucanas (DMG). Contagem de eritrócitos (Er), hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), volume corpuscular média (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), proteína plasmática total (PPT).

5.2 Parâmetros Imunológicos

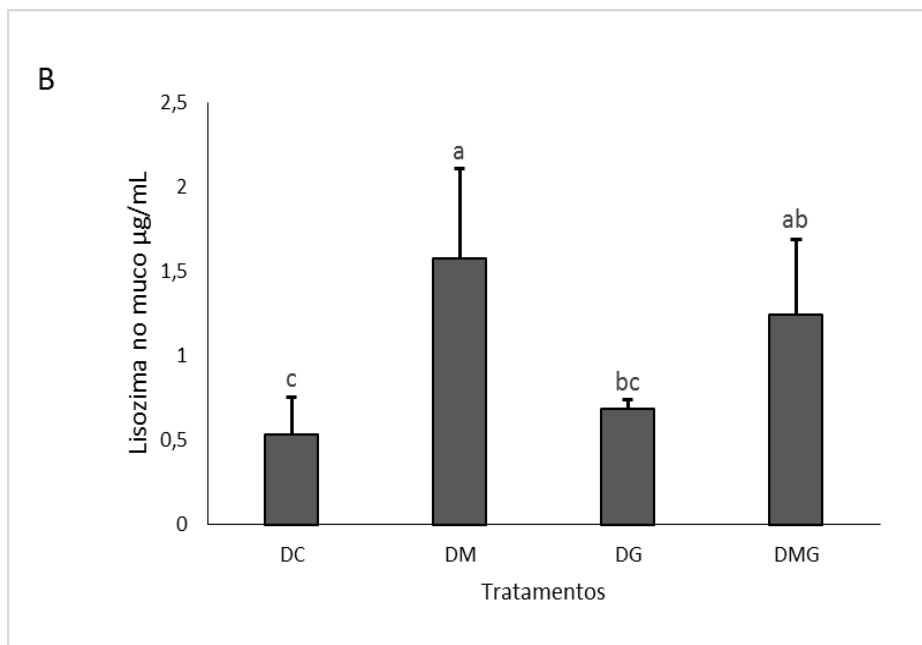
Após os 90 dias de experimentação a modulação da resposta imune não específica das tilápias-do-Nilo submetidas a baixa temperatura, foi estatisticamente influenciada pelo uso do mananoligossacarídeo e β-glucanas na alimentação dos peixes. A dieta suplementada com MOS aumentou significativamente a concentração da lisozima sérica quando comparada aos demais tratamentos (Figura 1A). Assim como, as tilápias-do-Nilo que receberam as dietas DM e DMG obtiveram as maiores concentrações de lisozima no muco (P<0,05) quando

comparados com DC.

Figura 1 – Níveis de lisozima sérica (A) e lisozima no muco (B) de tilápia-do-Nilo suplementadas com mananoligossacarídeo por 90 dias.



A suplementação dietética com 0,2% de β -Glucana não melhorou a concentração de lisozima no muco (Figura 2B).

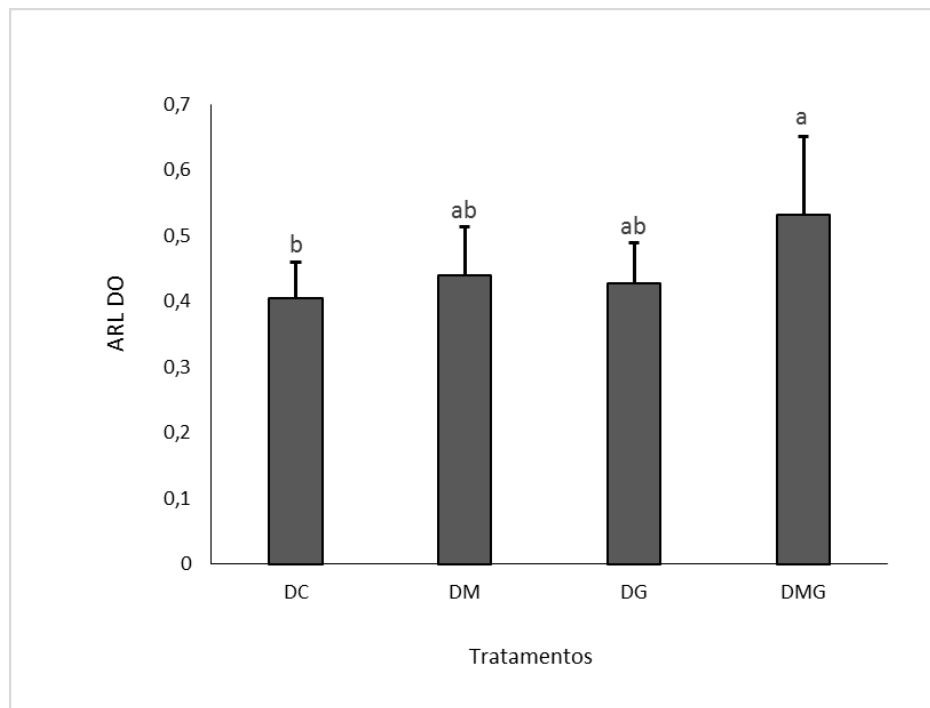


Fonte: Autoria própria. Dieta controle (DC), dieta com 0,2% MOS (DM), dieta com 0,2% β -glucanas (DG), dieta com 0,1% MOS e 0,1% β -glucanas (DMG). Diferentes letras acima de cada coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

A atividade respiratória dos leucócitos foi significativamente afetada pela suplementação do uso dos prebióticos. As tilápias alimentadas com DMG apresentaram a

maior atividade respiratória, quando comparados com peixes que foi fornecido a dieta controle. Não houve diferença na produção de EROs ($P>0,05$) entre tilápias alimentadas com DM, DG e DC (Figura 2).

Figura 2– Atividade respiratória dos leucócitos (ARL) em tilápia-do-Nilo suplementadas com mananoligossacarídeo e β -glucanase por 90 dias.



Fonte: Autoria própria. Dieta controle (DC), dieta com 0,2% MOS (DM), dieta com 0,2% β -glucanas (DG), dieta com 0,1% MOS e 0,1% β -glucanas (DMG). Densidade óptica (DO). Diferentes letras acima de cada coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

6 DISCUSSÃO

A suplementação com prebióticos, em menor proporção com MOS, e com maior eficácia com β -glucanas ou a mistura de ambos prebióticos, contribuem para manutenção das funções imunológicas inatas em condições de estresse crônico por temperaturas subótimas da água. Os parâmetros hematológicos e bioquímicos são variáveis importantes que precisam ser analisados quando os animais são expostos a situações adversas, e são utilizados como indicadores biológicos no monitoramento da saúde dos peixes (RANZANI-PAIVA et al., 2013; BURGOS-ACEVES; LIONETTI; FAGGIO, 2019).

A imunidade específica é afetada pela hipotermia (MAGNADÓTTIR, 2006; KORTET; VAINIKKA, 2008), e como possível mecanismo de compensação, os parâmetros imunes celulares e humorais inatos preservam suas funções a temperaturas sub-ótimas (VAN

MUISWINKEL; VERVOORN-VAN DER WAL, 2006; VELMURUGAN; CHAN; WENG, 2019). Segundo Saurabh & Sahoo (2008), existe uma correlação positiva entre a atividade da lisozima plasmática e a temperatura da água para tilápia do Nilo e esse mesmo feito foi relatado para várias espécies de peixes. Os resultados deste trabalho demonstram que mesmo em condições de baixas temperaturas, existe melhora dos parâmetros imunológicos (lisozima, atividade respiratória e atividade fagocítica) quando os peixes recebem dietas suplementadas com prebióticos.

A lisozima é uma enzima lítica de origem leucocitária e uma importante molécula de defesa do sistema imunológico inato (SAURABH; SAHOO, 2008). A principal fonte de lisozima são monócitos, macrófagos e granulócitos polimorfonucleados. Tecidos sujeitos a alta invasão microbiana (muco, brânquias, trato alimentar) necessitam de níveis elevados de lisozima, especialmente nos mecanismos de defesa de primeira linha (LIE et al., 1989).

A concentração de lisozima aumentou significativamente com a adição de MOS à dieta. Segundo LEVY-PEREIRA et al. (2018), que obtiveram aumento na concentração sérica de lisozima em tilápia do Nilo mantidas numa faixa de temperatura ótima e suplementadas com níveis de inclusão de 0,1% até 1,5% de MOS na dieta. A adição de β -glucanas ou sua combinação com MOS não aumentou a concentração desta enzima em nível sérico, da mesma forma que, não detectaram efeitos imunomoduladores de MOS e β -glucanas incorporados a 0,2% na ração para linguado do Pacífico (*Platichthys stellatus*). Ao contrário do que foi relatado para tilápias do Nilo quando suplementada com mananoglucosacarídeo e β -glucanas, em que houve um aumento na concentração de lisozima em uma proporção de 0,2% (ABU-ELALA et al., 2018) ou 0,25% (CHEN et al., 2019b) na dieta.

A ação auxiliar do MOS na resposta imune pode estar associada ao estímulo da secreção de lectina ligante à manose (LLM) que se unifica à parede celular da bactéria e ativa o complemento por via de lectina (TORRECILLAS; MONTERO; IZQUIERDO, 2014), assim, alguns componentes do sistema imunológico estimulam tanto a fagocitose quanto a exocitose de enzimas líticas (HOLLAND; LAMBRIS, 2002; URIBE et al., 2011). Os valores de concentração de lisozima no muco também foram influenciados pela ação conjunta de 0,1% de MOS + 0,1% de β -glucanas adicionado na dieta. O aumento da ação bactericida da lisozima do muco e sérica tem sido descrito como efeito da inclusão de β -glucanas na dieta da dourada (DAWOOD et al., 2017).

Experimentos com tilápia do Nilo submetida a condições de baixas temperaturas apontam a ocorrência de linfopenia, neutrofilia e monocitose (FALCON et al., 2008; BARROS et al., 2014). Neste trabalho foi observado um baixo percentual de linfócitos, que é

relacionado à produção de anticorpos e resposta celular humoral, e alto percentual de neutrófilos e monócitos, células sanguíneas que formam a primeira linha de defesa celular contra agentes invasores, não se pode afirmar que essas alterações leucocitárias ocorrem devido à ausência da quantificação prévia ao estresse pelo frio.

Não houve efeito ($P > 0,05$) no número total de leucócitos entre os tratamentos avaliados, sua função foi influenciada pela inclusão de probióticos dietéticos. Neutrófilos e monócitos de peixes tratados com imunomoduladores aumentaram sua atividade após período experimental. Seu sistema imunológico altera sua função durante o estresse provocado por baixa temperatura da água e isso influencia diretamente na sanidade devido a redução da capacidade do animal a resistir à doenças (THOMPSON et al., 2015; MAGOUZ et al., 2020).

Parâmetros imunes inatos, como atividade respiratória leucocitária, são usados como indicadores da atividade de leucócitos. (MAGNADÓTTIR, 2006; BILLER; TAKAHASHI, 2018) A suplementação dietética com 0,1% de MOS e de β -glucana melhorou significativamente a produção de EROs pelos fagócitos. Em outro estudo com tilápia do Nilo, foi observada estimulação da respiração de leucócitos após administração contínua de MOS em concentrações de 0,06-0,08% na dieta por 30 e 60 dias sob condições de temperatura adequada para a espécie (HA et al., 2017).

Além disso, o uso de uma dieta contendo 0,1% de beta-glucana por 6 semanas (4 semanas com prebióticos + 2 semanas sem prebióticos) foi descrito para manter o aumento da atividade respiratória leucocitária em tilápias do Nilo. Melhores respostas foram obtidas do que a administração contínua de prebiótico, sendo ambas superiores ao controle (WELKER et al., 2012), novamente, um aumento neste parâmetro foi relatado após 30 dias de suplementação com diferentes beta glucano em tilápia do Nilo (PILARSKI et al., 2017), o que nos permitiu inferir que a concentração, protocolo alimentar e origem da molécula interferem na sua eficácia.

As células fagocíticas reconhecem os epítomos presentes nos antígenos de microrganismos (Pathogens associated molecular patterns – PAMPs), por meio de receptores associados (Pattern Recognition Receptors – PRRs), sem nunca reconhecer componentes do próprio corpo (VAN MUISWINKEL; VERVOORN-VAN DER WAL, 2006; BILLER; TAKAHASHI, 2018).

Os imunomoduladores costumam ter características moleculares semelhantes às dos PAMPs na composição (HA et al., 2017). Os PRRs dos β -glucanos estão presentes nos macrófagos, que desencadeiam respostas imunes ao interagir com esses polissacarídeos como PAMPs (CAIPANG; LAZADO, 2015). Prebióticos como MOS, derivados de paredes

celulares de leveduras e carboidratos ricos em manana, podem induzir o PRR para estimular a imunidade celular inespecífica (HA et al., 2017). Neutrófilos e monócitos produzem ROS, uma estratégia do sistema imunológico para destruir múltiplos patógenos após a detecção (BILLER-TAKAHASHI et al., 2013).

Em um estudo com tilápia saudável (*Oreochromis mossambicus*) a 12°C por 1, 4, 8, 24 e 48 horas, observou-se um aumento significativo na atividade respiratória dos leucócitos após 8 horas, atingindo um máximo após 24 horas, onde, posteriormente, as respostas declinaram (VELMURUGAN; CHAN; WENG, 2019), indicando uma resposta imune positiva a esse parâmetro após estresse agudo em 24 horas. Os níveis dietéticos combinados de MOS e β -glucana aumentaram de 0,2% para 0,8%, o que também aumentou a atividade respiratória dos leucócitos no pacu (SOARES et al., 2018).

Neste experimento, a tilápia tratada com MOS ou β -glucana não apresentou resposta significativa à produção de ROS após 90 dias de exposição a temperaturas abaixo do ideal (exposição crônica), caso em que poderia mediar a imunidade. A ativação continuada de fagócitos, que geram EROs de forma permanente devido à sua atividade respiratória, e a consequente ativação de compostos de defesa inespecíficos, podem promover a exaustão do sistema imunológico (ABRAM; Dickson; Katzenbach, 2017).

As respostas fisiológicas a agentes estressantes em peixes são similares à verificada em outros vertebrados, e têm sido descritas em três níveis, e muitas delas têm sido descritas como indicadores de estresse em peixes, essas respostas são divididas em três categorias, primárias, secundárias e terciárias (SILVEIRA; LOGATO; PONTES, 2009).

A permanência de peixes em ambientes nos quais os fatores como variáveis da qualidade da água e manejo inapropriado podem conduzi-los a uma situação de estresse resultando em depleção do sistema imunológico, baixo crescimento e sobrevivência (ADAMANTE, et al., 2008). O efeito dos prebióticos na dieta sobre o *burst* oxidativo neste experimento parece antagônico em relação aos padrões anteriormente observados na tilápia do Nilo ou outras espécies de peixes. Estas inconsistências estão provavelmente ligadas ao efeito adjuvante entre a MOS e β -glucanas ou as diferentes concentrações de prebióticos, em função do tempo de exposição à baixa temperatura da água.

7 CONCLUSÃO

A inclusão dietética dos prebióticos possui um impacto positivo na resposta imune e não influencia nos parâmetros hematológicos em tilápia do Nilo. A suplementação de 0,2% de

MOS ou com 0,1 % de MOS + 0,1 de β -Glucanas em dietas para tilápia do Nilo pode ser uma estratégia eficiente para prevenir alterações fisiológicas causadas por longos períodos de baixa temperatura típicos de regiões subtropicais, melhorando a saúde ao reduzir a incidência de doenças infecciosas relacionadas às mudanças de temperatura em determinadas épocas do ano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAM, Q. H.; DIXON, B.; KATZENBACK, B. A. Impacts of low temperature on the teleost immune system. **Biology**, v. 6, n. 4, p. 1–15, 2017.

ABREU, J. *et al.* Leukocytes respiratory burst and lysozyme level in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 4, p. 1133–1139, nov. 2009.

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

ADAMANTE, W. B. *et al.* Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of transportation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 755-761, 2008.

A. Dimitroglou, D.L. Merrifield, O. Carnevali, S. Picchetti, M. Avella, C. Daniels, D. Güroy, S.J. Davies. Microbial manipulations to improve fish health and production – a **Mediterranean perspective Fish Shellfish Immunol.**, 30 (2011), pp. 1-16.

A.K. Amirkolaie, S. Karimzadeh, A.M. Jafary The effects of dietary supplement of immunogen on growth performance, and visceral and hepatic somatic indices of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) **Asian Fish Sci.**, 26 (2013), pp. 232-242

AMPHAN, S. *et al.* Feeding-regimen of β -glucan to enhance innate immunity and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* Linn., against *Aeromonas hydrophila* and *Flavobacterium columnare*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 87, p. 120–128, 2019.

AQUACULTUREBRASIL. **Principais estados produtores de Tilápia no Brasil em 2020**. 2021. Disponível em. < <https://www.aquaculturebrasil.com>>. Acesso em 08/04/ 2022.

ARAÚJO, E. P. de *et al.* Dietary spray-dried plasma enhances the growth performance, villus: crypt ratio and cold-induced stress resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 479, n. July, p. 675–681, 2017.

BARROS, M. M. *et al.* Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed β -glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 39, n. 2, p. 188–195, 2014.

BARTON, K. C. (2002). «Oh, that’s a tricky piece!»: Children, mediated action, and the tools of historical time. **Elementary School Journal**, 103, pp. 161-185.

BILLER-TAKAHASHI, J. D.; URBINATI, E. C. Fish immunology. The modification and manipulation of the innate immune System: Brazilian studies. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 3, p. 1483–1495, 2014.

BILLER-TAKAHASHI, J. *et al.* Leukocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Brazilian Journal of Biology**, v.73, n. 2, p. 425–429, 2013.

BILLER, J. D.; TAKAHASHI, L. S. Oxidative stress and fish immune system: Phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 4, p. 3403–3414, 2018.

BLAXHALL, P. C.; DAISLEY, K. W. Routine haematological methods for use with fish blood. **Journal of Fish Biology**, v. 5, n. 6, p. 771–781, 1973.

BURGOS-ACEVES, M. A.; LIONETTI, L.; FAGGIO, C. Multidisciplinary haematology as prognostic device in environmental and xenobiotic stress-induced response in fish. **Science of the Total Environment**, v. 670, p. 1170–1183, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.275>>.

CAI, W. Q.; LI, S. F.; MA, J. Y. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia x male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. **Aquaculture**, v. 229, n. 1–4, p. 79–87, 2004.

CAIPANG, C. M. A.; LAZADO, C. C. Nutritional impacts on fish mucosa: Immunostimulants, pre- and probiotics. In: BECK, B. H.; PEATMAN, E. (Ed.). **Mucosal Health in Aquaculture**. Oxford: Academic Press, p. 211–272. 2015.

CHEN, X.-Q. *et al.* Effects of dietary hydrolyzed yeast (*Rhodotorula mucilaginosa*) on growth performance, immune response, antioxidant capacity and histomorphology of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 90, n. March, p. 30–39, 2019.

Cheng, XN, Shao, M., Li, JT, Wang, YF, Qi, J., Xu, ZG, Shi, DL (2017) A proteína adaptadora de repetição de leucina 1 interage com Disheveled para regular os movimentos das células de gastrulação em peixe-zebra. **Comunicações da natureza**. 8:1353.

CHESTRY, J. K. *et al.* PAMP induced expression of immune relevant genes in head kidney leukocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Developmental and Comparative Immunology**, v. 35, n. 4, p. 476–482, 2011.

CHOWDHURY, S.; SAIKIA, S. K. Oxidative Stress in Fish: A Review. **Journal of Scientific Research**, v. 12, n. 1, p. 145–160, 2020.

Clusella-Trullas, S., T. M. Blackburn, and S. L. Chown. 2011. Climatic predictors of temperature performance curve parameters in ectotherms imply complex responses to climate change. **American Naturalist** 177:738–751.

DAS, S.; MONDAL, K.; HAQUE, S. A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable development of aquaculture. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5, n. 52, p. 422–429, 2017.

DAWOOD, M. A. O. *et al.* Dietary supplementation of β -glucan improves growth

performance, the innate immune response and stress resistance of red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 148–159, 2017.

DAWOOD, M. A. O. et al. Growth performance and hemato-immunological responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to deltamethrin and fed immunobiotics.

Environmental Science and Pollution Research, v. 27, n. 11, p. 11608–11617, 2020a.

DAWOOD, M. A. O. et al. The effect of mannanoligosaccharide on the growth performance, histopathology, and the expression of immune and antioxidative related genes in Nile tilapia reared under chlorpyrifos ambient toxicity. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 103, n. May, p. 421–429, 2020b.

DAWOOD, M. A. O. et al. The influence of dietary β -glucan on immune, transcriptomic, inflammatory and histopathology disorders caused by deltamethrin toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 98, n. January, p. 301–311, 2020e.

E. Ringø, R.E. Olsen, T.Ø. Gifstad, R.A. Dalmo, H. Amlund, G.-I. Hemre, A.M. Bakke Prebiotics in aquaculture: a review **Aquacult. Nutr.**, 16 (2010), pp. 117-136

E. Ringø, A. Dimitroglou, S.H. Hoseinifar, S.J. Davies Prebiotics in finfish: an update **Aquacult. Nutr.** (2014), pp. 360-400.

EL-SAYED, A.-F. M. Intensive culture. 2nd. ed. London: **Academic Press**, 2020.

FALCON, D. R. et al. Physiological responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed vitamin C- and lipid-supplemented diets and submitted to low-temperature stress. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 38, n. 2, p. 287–295, 2007.

FALCON, D. R. et al. Leucograma da Tilápia-do-Nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis de vitamina C e lipídeo submetidas a estresse por baixa temperatura. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 543–551, 2008.

FAO. ***Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)**. 2005-2021. Disponível em: <<https://www.fao.org>>. Acesso em: 13 de out. 2021

FAZIO, F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. **Aquaculture**, v. 500, p. 237–242, 2019. FAO. The state of world fisheries and aquaculture – Rome:

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

Fonseca, R. A., MOURA NETO, H., da PASCHOA, J. C. V., MOREIRA, C., SOUZA, M., MENDONÇA, P., ... & CRESPO, A. (2021). Aquicultura: Impactos ambientais negativos e a mitigação com práticas agroecológicas.

GARCIA, F.; SANTOS, V. B.; MORAES, E. Eficiência da suplementação alimentar em tilápias do nilo usando modelo exponencial de crescimento efficiency. **Arch. Zootec**, v. 60, n. 232, p. 1239–1246, 2011.

GRANT, K. R. Fish Hematology and Associated Disorders. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 35, n. 3, p. 681–701, 2015.

G. Burr, M. Hume, W.H. Neill, D.M. Gatlin III. Effects of prebiotics on nutrient digestibility of a soybean-meal-based diet by red drum *Sciaenops ocellatus* (Linnaeus) **Aquacult. Res.**, 39 (2008), pp. 1680-1686.

HA, N. Dietary carbohydrates and protein of yeast modulate the early stages of innate immune response in tilapia (*Oreochromis niloticus*) primarily after LPS inoculation. **Aquaculture International**, v. 25, n. 2, p. 755–776, 2017.

HE, Y. fu *et al.* Effects of salinity on cold tolerance of Malaysian red tilapia. **Aquaculture International**, v. 25, n. 2, p. 777–792, 2017.

HE, Y. fu *et al.* Effects of salinity on cold tolerance of Malaysian red tilapia. **Aquaculture International**, v. 25, n. 2, p. 777–792, 2017.

HOLLAND, M. C. H.; LAMBRIS, J. D. The complement system in teleosts. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 12, n. 5, p. 399–420, 2002.

HOSEINIFAR, S. H. *et al.* Prebiotics and Fish Immune Response: A Review of Current Knowledge and Future Perspectives. **Reviews in Fisheries Science and Aquaculture**, v. 23, n. 4, p. 315–328, 2015.

HRUBEC, T. C.; CARDINALE, J. L.; SMITH, S. A. Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*). **Veterinary Clinical Pathology**, v. 29, n. 1, p. 7–12, 2000.

KAWAHARA, E.; UEDA, T.; NOMURA, S. *In Vitro* Phagocytic Activity of White Spotted Char Blood Cells after Injection with *Aeromonas salmonicida* Extracellular Products. **Fish Pathology**, v. 26, n. 4, p. 213–214, 1991. KUMAR, J. *et al.* Seasonal variation in the innate immune parameters of the Asian catfish *Clarias batrachus*. **Aquaculture**, v. 252, n. 2–4, p. 121–127, 2006.

K.M. Selim, R.M. Reda Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens* **Fish Shellfish Immunol.**, 44 (2015), pp. 496-503.

KIRON, V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1–2, p. 111–133, 2012. A. Irianto, B. Austin Probiotics in aquaculture J. **Fish. Dis.**, 25 (2002), pp. 633-642

LANGEVIN, C. *et al.* The antiviral innate immune response in fish: evolution and conservation of the IFN system. **Journal of molecular biology**, v. 425, n. 24, p. 4904-4920,

2013.

LEVY-PEREIRA, N. *et al.* Immunostimulation and increase of intestinal lactic acid bacteria with dietary mannan-oligosaccharide in Nile tilapia juveniles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, 2018.

LIMA DE ALMEIDA, C. A. *et al.* Effect of the dietary linoleic/ α -linolenic ratio (n6/n3) on histopathological alterations caused by suboptimal temperature in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Thermal Biology**, v. 85, n. May, p. 1–10, 2019.

LIMA, C. L. *et al.* Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n. 3, p. 113-117, 2006.

MAGOUZ, F. I. *et al.* The role of a digestive enhancer in improving the growth performance, digestive enzymes activity, and health condition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under suboptimal temperature. **Aquaculture**, v. 526, n. March, p. 735388, 2020.

MAGNADÓTTIR, B. Innate immunity of fish (overview). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 20, n. 2, p. 137–151, 2006.

M.A. Ramos, S. Batista, M.A. Pires, A.P. Silva, L.F. Pereira, M.J. Saavedra, R.O.A. Ozório, P. Rema. Dietary probiotic supplementation improves growth and the intestinal morphology of Nile tilapia. , 11 (2017), pp. 1259-1269.

M. Anguiano, C. Pohlenz, A. Buentello, D.M. Gatlin The effects of prebiotics on the digestive enzymes and gut histomorphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*) and hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) **Br. J. Nutr.**, 109 (2013), pp. 623-629.

MAGOUZ, F. I. *et al.* Impact of biomas and Agrimos dietary supplementation on growth performance, feed utilization and immunological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Slovenian Veterinary Research**, v. 56, n. Suppl 22, p. 87–98, 2019.

MARTÍN-SÁNCHEZ, A. M.; NAVARRO, C.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; KURI, V. Alternatives for efficient and sustainable production of surimi: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 8, n. 4, p. 359–374, 2009.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, R. W. Digestibilidade aparente de alguns alimentos proteicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1801-1809, 2003.

MONTALBAN-ARQUES, A. *et al.* Selective manipulation of the gut microbiota improves immune status in vertebrates. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. OCT, p.1–14, 2015.

NAWAZ, A. *et al.* The functionality of prebiotics as immunostimulant: Evidences from trials on terrestrial and aquatic animals. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 76, n. February, p. 272–278, 2018.

NOBREGA, R. O. *et al.* Improving winter production of Nile tilapia: What can be

done?

Aquaculture Reports, v. 18, 2020.

OLIVEIRA FILHO, P. R. C. DE; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; TRINDADE, M. A.; BALIEIRO, J. C. D. C.; VIEGAS, E. M. M. Quality of sausage elaborated using minced Nile Tilapia submitted to cold storage. **Scientia Agricola**. v. 67, p. 183–190, 2010.

PAZ, A. de L. *et al.* Protective effects of the fructooligosaccharide on the growth performance, hematology, immunology indicators and survival of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Serrasalminidae) infected by *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture Reports**, v. 15, n. August, p. 100222, 2019.

PEIXEBR. **Associação Brasileira de Piscicultura**. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anoario2018/>>. Acesso em: 13 out. 2021.

PEIXE-BR. Anuário Peixe Br da Piscicultura 2020. **Associação Brasileira de Piscicultura**, p. 1–136, 2020.

PEIXEBR. Anuário Peixe BR. São Paulo: **Associação Brasileira da Piscicultura**, 2019. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anoario2018/>. Acesso em: 09 jan. 2019.

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

RANZANI-PAIVA, T. J. M.; PÁDUA, B. S.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, I. M. Métodos para análise hematológica em peixes: **Editora UEM**, p. 13-135, 2013.

Revista Brasileira de Reprodução Animal. Belo Horizonte, v. 30, n. 3/4, p. 113-117, 2006.

RINGØ, E. *et al.* Probiotics in aquaculture: A review. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n.2, p. 117–136, 2010.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. **Memórias do Instituto Butantã**, v. 20, p. 329-334, 1947.

ROSS, D.; MOLDEUS, P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In: VIGOPELFREY, C. (Ed.). **Membrane lipid oxidation**. 1 ed. Boca Raton, CRC Press, 1991. p.151-70,

R. Ta'ati, M. Soltani, M. Bahmani, A.A. Zamini Effects of the prebiotics Immunoster and Immunowall on growth performance of juvenile beluga (*Huso huso*) J. **Appl. Ichthyol.**, 27 (2011), pp. 796-798.

SADO, R. Y. *et al.* Hematología de juveniles de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) alimentado con raciones suplidas con manan oligosacáridos (MOS). **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 42, n. 1, p. 30–39, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/103856/vol42-issue1-fulltext-3>>.

SADO, R. Y.; BICUDO, Á. J. D. A.; CYRINO, J. E. P. Feeding dietary mannan

oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 39, n. 6, p. 821–826, 2008.

SALAH, A. S.; EL NAHAS, A. F.; MAHMOUD, S. Modulatory effect of different doses of β -1,3/1,6-glucan on the expression of antioxidant, inflammatory, stress and immune-related genes of *Oreochromis niloticus* challenged with *Streptococcus iniae*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 70, p. 204–213, 2017.

SAURABH, S.; SAHOO, P. K. Lysozyme : **an important defence molecule of fish innate immune system**. p. 223–239, 2008.

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

SILVEIRA, S. U.; LOGATO, R. P.; PONTES, C. E. Fatores estressantes em peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n. 4, p. 1001-1017, 2009. Disponível em: . Acesso em: 03/06/2022.

SOARES, M. P. et al. Glucan-MOS ® improved growth and innate immunity in pacu stressed and experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 73, n. November 2017, p. 133–140, 2018.

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

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R. Desenvolvimento e potencial da tilapicultura no Brasil. **Revista de Economia e Agronegócio**, v. 16, n. 2, p. 177-201, 2018.

THOMPSON, M. et al. A dietary dairy/yeast prebiotic and flaxseed oil enhance growth, hematological and immunological parameters in channel catfish at a suboptimal temperature (15°C). **Animal**, v. 9, n. 7, p. 1113–1119, 2015.

TORRECILLAS, S.; MONTERO, D.; IZQUIERDO, M. Improved health and growth of fish fed mannan oligosaccharides : Potential mode of action. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 36, p. 525–544, 2014.

URIBE, C. *et al.* Innate and adaptive immunity in teleost fish: A review. **Veterinarni Medicina**, v. 56, n. 10, p. 486–503, 2011.

VELMURUGAN, B. K.; CHAN, C. R.; WENG, C. F. Innate-immune responses of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) exposure to acute cold stress. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 9, p. 16125–16135, 2019.

VIEIRA DE AZEVEDO, R. et al. Effects of dietary mannan oligosaccharide on the growth, survival, intestinal morphometry and nonspecific immune response for Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan, 1910) larvae. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 44, n. 4, p. 800–806, 2016.

WANG, W. *et al.* Application of immunostimulants in aquaculture : current knowledge and future perspectives. **Aquaculture Research**, n. 48, p. 1–23, 2017.

WELKER, T. L. *et al.* Use of Diet Crossover to Determine the Effects of β -glucan Supplementation on Immunity and Growth of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 43, n. 3, p. 335.