

# Influência de probióticos na prevalência parasitária e níveis de glicose e cortisol em tilápia do Nilo

Marengoni<sup>1</sup>®, N.G.; Weiss, L.A.<sup>1</sup>; Albuquerque, D.M.<sup>2</sup> e Moura, M.C.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciências Agrárias. Curso de Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Brasil.

<sup>2</sup>Faculdade de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Grande Dourados-UFGD. Dourado. Brasil.

<sup>3</sup>Pontifícia Universidade Católica do Paraná-PUC. Toledo. Brasil.

## RESUMO

A adição de probióticos em rações visa atuar como um bioestimulante da flora intestinal das tilápias. A fase de alevinagem em tanques-rede utiliza grande densidade de peixes, o que pode potencializar os efeitos de estresse. Os probióticos surgem como uma alternativa para a mitigação ou prevenção de danos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos probióticos *Bacillus cereus* var. *Toyoi* e *Bacillus subtilis* C-3201 na prevalência parasitária e verificar o estado de saúde por meio do perfil bioquímico de glicose e cortisol e do fator de condição de Fulton (Kf) para atuar como indicador quantitativo do bem-estar de tilápia do Nilo da linhagem GIFT cultivada em tanques-rede. Foram utilizados 1800 juvenis de tilápia do Nilo distribuídos em 20 tanques-rede de 0,5 m x 0,5 m x 0,7 m instalados em tanques com baixa renovação de água. O grupo de peixes sem a adição de probióticos ( $T_1$ ) recebeu apenas dieta basal. Os probióticos liofilizados foram incluídos na ração utilizando 2 % de óleo vegetal na mesma proporção utilizada em todos os grupos experimentais. Na ração basal foram adicionados níveis de 0,5 % *B. cereus* ( $T_2$ ), 0,5 % de *B. subtilis* ( $T_3$ ), 0,25 % de *B. cereus* + 0,25 % *B. subtilis* ( $T_4$ ). As dietas com adição de *B. cereus* e/ou *B. subtilis* não foram eficientes no controle da infestação ectoparasitária por monogenóides e trichodinídeos. Houve maior ( $p < 0,001$ ) incidência de *Gyrodactylus* spp. (71 %) nas brânquias das tilápias em comparação com a prevalência deste parasita na pele ou nadadeiras, enquanto que a infestação de *Apiosoma* sp. foi maior ( $p < 0,001$ ) na pele dos juvenis. A prevalência média de *Epistylis* sp., *Ichthyophthirius multifiliis* e *Ambiphrya* spp. não apresentaram diferença significativa entre os órgãos avaliados. O nível de glicose sanguínea foi maior ( $p < 0,05$ ) nas tilápias alimentadas com a dieta isenta de aditivos. Os probióticos dietários *B. cereus* e/ou *B. subtilis* não foram eficientes no controle da infestação ectoparasitária no muco dos peixes. Independente da dieta a pele da tilápia do Nilo é o órgão mais afetado pela infestação parasitária por *Trichodina* sp., enquanto as brânquias apresentam maior prevalência de *Monogenea*. O estado de saúde dos juvenis de tilápia do Nilo monitorado por meio do perfil bioquímico de glicose e cortisol, e do fator de condição de Fulton (Kf) não é influenciado pela adição de probióticos *Bacillus* sp. na dieta.

## Influence of probiotics in the parasitic prevalence and levels of glucose and cortisol in Nile tilapia

### SUMMARY

The addition of probiotics in diets aims to act as a growth promoter of intestinal flora species that make use of it. The nursery phase in cages uses high density of fish that can lead to more frequent instances of stress that can leverage the most serious problems in production. The probiotics appears as an alternative to minimize or prevent damage. The objective of this study was to evaluate the influence of probiotic *Bacillus cereus* var. *Toyoi* and *Bacillus subtilis* C-3201 in the parasitic prevalence and verify the health status through the biochemical profile of glucose and cortisol and Fulton condition factor (Kf) to act as a quantitative indicator of welfare of Nile tilapia GIFT strains created in cages system profile. A total of 1800 juveniles of Nile tilapia were distributed in 20 cages of 4.0 mm and 0.5 m x 0,5 m x 0,7 m individually installed in tanks with low water renewal. The fish without the addition of probiotics ( $T_1$ ) received just the basal diet feed with vegetable oil added in the same proportions used in all experimental groups. The basal feed was added at levels of 0.5 % of *B. cereus* var. ( $T_2$ ), 0.5 % of *B. subtilis* ( $T_3$ ), 0.25 % of *B. cereus* + 0.25 % of *B. subtilis* ( $T_4$ ). The diets with addition of *B. cereus* and/or *B. subtilis* were not effective in controlling the parasitic infestation by monogenean and trichodinids. There was a greater ( $p < 0.001$ ) incidence of *Gyrodactylus* spp. (71 %) in the gills compared to prevalence of parasites on the skin or fins, while *Apiosoma* sp. infestation was greater ( $p < 0.001$ ) in the skin of juveniles. The prevalence of *Epistylis* sp., *Ichthyophthirius multifiliis* and *Ambiphrya* spp. did not present significant difference between the assessed organs. The level of blood glucose was higher ( $p < 0.05$ ) in tilapias fed a diet free of additives. The dietary probiotic *B. cereus* and/or *B. subtilis* not positively contribute to the reduction the prevalence of ectoparasites

### PALAVRAS CHAVE ADICIONAIS

*Oreochromis niloticus*.

Tanques-rede.

Estresse.

Parasitas.

Aditivos.

Saúde.

### ADDITIONAL KEYWORDS

*Oreochromis niloticus*.

Cages.

Stress.

Parasites.

Food additives.

Health.

### INFORMACIÓN

Cronología del artículo.

Recibido/Received: 11.9.2014

Aceptado/Accepted: 22.1.2015

On-line: 16.3.2015

Correspondencia a los autores/Contact e-mail:

nmarengoni@hotmail.com

on fish mucus. Regardless of the diet, the Nile tilapia skin is the most affected organ by parasitic infestation by *Trichodina* sp., while the gills have a higher prevalence of *Monogenea*. The health status of juvenile Nile tilapia monitored through biochemical profile of glucose and cortisol, and Fulton condition factor (Kf) is not influenced by the dietary addition of probiotic *Bacillus* spp.

## INTRODUÇÃO

A intensificação da produção aquícola, a exemplo dos sistemas de produção em tanques-rede, aumenta o risco de doenças e de perdas. A modificação do ambiente natural para alcançar maior produtividade, potencializando os resíduos dos metabólitos dos peixes e do arraçoamento, podendo contaminar a água e o solo, criando condições favoráveis ao desenvolvimento parasitário.

A tilápia do Nilo é uma das espécies mais indicadas para criação intensiva principalmente em países tropicais como o Brasil, onde as temperaturas favorecem seu desempenho. Além disso, suas características zootécnicas e alta qualidade da carne fazem esta ser um produto de grande interesse para o processamento industrial. Nos sistemas de cultivo intensivo os peixes são continuamente expostos a situações de estresse que podem determinar modificações temporárias na homeostase, induzindo-os a alterar suas respostas fisiológicas na tentativa de se adaptar a novas situações. Essas mudanças podem ser prolongadas e vir acompanhadas de estresse crônico, intensificando o desequilíbrio do organismo (Falcon *et al.*, 2008). Os níveis plasmáticos de cortisol e glicose podem variar de acordo com o tipo e a duração do estresse (Mommsen *et al.*, 1999; Barton *et al.*, 2002).

O desequilíbrio ambiental reflete no sistema imunológico dos peixes e no surgimento de doenças. As parasitoses são as maiores causas de perdas econômicas em cultivos. Os metazoários monogenéticos e os protozoários tricodinídeos destacam-se como parasitos potencialmente patogênicos para os peixes (Wanderson Pantoja *et al.*, 2012; Zago *et al.*, 2014). Estas parasitoses são oportunistas, alojando-se na pele e nas brânquias dos peixes, podendo se alimentar dos tecidos e fluídos dos hospedeiros, promovendo assim, um desenvolvimento retardado e, nos casos mais graves, a morte dos peixes (Ghiraldelli *et al.*, 2006).

Os probióticos constituem uma das alternativas à utilização de antibióticos no controle de doenças quando adicionados à dieta com o propósito de estimular o sistema imune dos animais, contribuindo para reduzir a incidência de microrganismos patogênicos (Balcázar *et al.*, 2006). Estes são aditivos microbianos vivos que têm efeito benéfico ao hospedeiro, que podem modificar a comunidade microbiana, e proporcionar a eficiência de utilização das dietas. Além destas importantes funções benéficas aos hospedeiros, os probióticos podem também contribuir na degradação da matéria orgânica, reduzindo significativamente o material sedimentado, melhorando consequentemente a qualidade da água, a sanidade dos peixes e a segurança alimentar (Sahu *et al.*, 2008; Nayak, 2010; Mohapatra *et al.*, 2013).

Os probióticos dietéticos, *B. cereus* var. Toyoi e *B. subtilis* C-3102 são produtos aprovados pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (AESA). Estes aditivos são usados comercialmente para bovinos, aves, coelhos e suínos (Silley, 2006) e recentemente em peixes (Moura, 2011; Dias *et al.*, 2012; Albuquerque *et al.*, 2013; Nakandakare *et al.*, 2013a, 2013b; Wild *et al.*, 2014). Porém, poucas pesquisas são encontradas com relação à utilização de agentes antimicrobianos como medida preventiva à contaminação do ambiente por parasitos em sistemas de cultivo de tilápias em tanque-rede. No entanto, o desenvolvimento da pesquisa científica ainda é necessária para verificar as espécies mais adequadas, sua eficácia como probióticos e entender seu modo de ação (Kesarcodi-Watson *et al.*, 2008), especialmente em relação às infestações parasitárias, ao perfil bioquímico de glicose e cortisol e o estado de saúde dos peixes avaliado por meio do fator de condição de Fulton (Kf).

O perfil hematológico e a prevalência parasitária têm se tornado uma ferramenta interessante para a elucidação de possíveis alterações na homeostase dos peixes, permitindo inferências no diagnóstico para avaliar a higidez, sobre a salubridade quando expostos a situações adversas. Vários autores têm estudado a influência de suplementos e aditivos alimentares em tilápia do Nilo (Ghiraldelli *et al.*, 2006; Okamura *et al.*, 2007; Nakandakare *et al.*, 2013b), embora o desenvolvimento científico deste assunto ainda seja necessário.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos probióticos *Bacillus cereus* var. Toyoi e *Bacillus subtilis* C-3102 na prevalência de ectoparasitas (*Trichodina* spp., *Gyrodactylus* spp., *Apiosoma* sp., *Epistylis* sp., *Ambiphrya* spp. e *Ichthyophthirius multifiliis*) na pele, nadadeiras e brânquias e verificar o estado de saúde por meio do perfil bioquímico de glicose e cortisol e do fator de condição para atuar como indicador do bem-estar de juvenis de tilápia do Nilo criados em sistema de tanques-rede.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Instituto de Pesquisas em Aquicultura Ambiental (InPAA), em Toledo e nos laboratórios de Química Agrícola e Ambiental e Reprodução Animal da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil e teve duração de 127 dias.

Foram distribuídos aleatoriamente 1800 juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem GIFT (Genetically Improved Farm Tilapia) machos sexualmente invertidos com peso inicial de 0,34 g, igualmente alocados nas 20 unidades experimentais, resultando na biomassa inicial de 30,6 g. Os peixes foram alocados em tanques-rede de dimensões 0,5 m x 0,5 m x 0,7 m instalados em tanques de piscicultura localizados no InPAA. Os tanques receberam abastecimento e escoamento de água individual, por gravidade. A renovação foi suficiente para repor apenas as perdas por infiltração e evaporação, mantendo a repleção do volume dos tanques.

A dieta foi composta de ração comercial extrusada, para peixe em fase inicial (juvenis) com 36 % de proteína bruta. Os probióticos utilizados foram *Bacillus subtilis* marca Calsporin distribuído pela Uniquímica produzido na cidade de Diadema, São Paulo, Brasil e *Bacillus cereus* var. Toyoi chamado Toyocerin, distribuídos pela Sumitomo Chemical do Brasil Ltda., ambas contendo 500 milhões de esporos por grama, proporcionalmente, testados individualmente e combinadas. As tilápias foram arraçoadas diariamente a uma taxa inicial de 10 % em relação ao peso vivo dos peixes, ajustadas de acordo com as biometrias mensais e a temperatura da água.

O grupo de peixes isento da adição de probióticos (T1) recebeu ração apenas de dieta basal adicionada com óleo vegetal na mesma proporção utilizada em todos os demais grupos experimentais. Na ração basal foram adicionados níveis de 0,5 % de *Bacillus cereus* var. Toyoi (T2), 0,5 % de *Bacillus subtilis* C-3102 (T3), 0,25 % de *B. cereus* var. Toyoi + 0,25 % *B. subtilis* C-3102 (T4). Foram realizadas cinco repetições, totalizando 20 unidades experimentais.

No monitoramento da qualidade da água incluíram a temperaturas da água, mensurada diariamente e oxigênio dissolvido (OD), medido semanalmente, utilizando o oxímetro de pulso Hanna modelo HI 9828; o potencial hidrogeniônico (pH) pelo medidor de pH portátil Hanna HI 8424, condutividade com o equipamento Hanna HI 9835 e a transparência da água com um disco de Secchi.

Ao final do período experimental todos os peixes foram pesados e medidos. Determinou-se o *fator de condição de Fulton* (Kf) que é considerado como o quociente entre o peso observado e o peso teoricamente estimado por meio da relação peso/comprimento (Rocha *et al.*, 2005).

Para avaliar o efeito das quatro dietas sobre a prevalência de ectoparasitos nos diferentes órgãos utilizou-se o delineamento fatorial 4 x 3 quatro dietas avaliadas, e três órgãos estudados com cinco repetições. Foram coletados cinco peixes por tanque e transferidos para o laboratório onde foi realizada a contenção manual para realização de exame clínico, verificação de eritemas, descamações, hematomas ou outras anormalidades aparentes. Após estes procedimentos foi realizada a raspagem do muco cutâneo com lamínula, comprimindo-a sobre lâmina e observação em microscopia de luz com lentes de 40 e 100 x (Eiras *et al.*, 2010). Praticou-se a eutanásia por secção medular para a coleta dos dois primeiros arcos branquiais para visualização em microscópio de luz com aumento de 40 x, para observar e caracterizar a presença de parasitas (Eiras *et al.*, 2006).

As análises parasitológicas foram realizadas em alíquotas fracionadas na pele e nadadeiras de 100 peixes, respectivamente do lado esquerdo e direito e nas brânquias do 1º e 2º arco branquial de cada lado de acordo com recomendações adaptadas de Ghiraldelli *et al.* (2006), sendo que para cada peixe foram analisadas oito lâminas umidificadas em solução salina saturada e lamínula para facilitar a visualização. A prevalência média foi calculada de acordo com Bush *et al.* (1997),

e a identificação segundo Thatcher (1991) e Kritsky e Boeger (1994).

Na avaliação do perfil bioquímico de glicose e cortisol, cinco indivíduos de cada unidade experimental foram coletados aleatoriamente e insensibilizados antes da coleta de sangue usando eugenol e água a 75 mg/L (Vidal *et al.*, 2008). As amostras de sangue foram recolhidas por punção da veia caudal com seringas esterilizadas (2 mL) e agulhas contendo EDTA a 10 %, como agente anticoagulante. A determinação da glicose do sangue dos peixes foi realizada imediatamente após a coleta, aplicando-se uma gota de sangue no medidor de glicose automático, modelo Advantage ACCU-CHEK SOFTclix. O sangue coletado foi transferido para tubo estéril sem EDTA e centrifugado a 3500 rpm por cinco minutos. O soro foi extraído com auxílio de pipeta e colocado em tubo para determinação do cortisol pelo método da quimiluminescência.

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios propostos pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (SBCAL/COBEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal e Aulas Práticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (protocolo n° 81/2009 CEEAAP/Unioeste).

Os valores médios das variáveis analisadas foram submetidos à análise de variância e, em caso de evidência de significância as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (SAS, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios da qualidade de água, condutividade, transparência, oxigênio dissolvido e pH foram considerados adequados ao cultivo da espécie conforme Boyd (2005). Apenas a temperatura média diária que variou entre 23,40 e 26,60 °C, ficando abaixo da temperatura ideal indicada para o cultivo de tilápia do Nilo que é de 28 °C (El-Sayed, 2006). Os parâmetros de qualidade de água condutividade, transparência, oxigênio dissolvido, pH e temperatura não foram influenciados ( $p > 0,05$ ) pela utilização dos probióticos adicionados à ração comercial para juvenis de tilápia do Nilo, em tanques-rede.

A pele e nadadeiras foram os órgãos que apresentaram maior infestação parasitária ( $p < 0,001$ ) por *Trichodina* ssp., enquanto que as brânquias albergaram maior infestação ( $p < 0,001$ ) de *Monogenea* (tabela I). Marengoni *et al.* (2009), encontraram resultados semelhantes ao avaliarem a presença de parasitas em tilápia do Nilo cultivadas sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede, relatando maior prevalência de *Monogenea* em relação à *Trichodina* sp. nos filamentos branquiais. Jerônimo *et al.* (2011) relatam o gênero *Trichodina* como o mais dominante na pele das tilápias em três regiões do estado de Santa Catarina, associando os valores de prevalência à sazonalidade.

As dietas com adição de *Bacillus cereus* e/ou *Bacillus subtilis* não foram eficientes no controle da infestação ectoparasitária por monogenóides e trichodinídeos, respectivamente na pele, brânquias e nadadeiras das tilá-

**Tabela I.** Prevalência média (%) de *Monogenea* e *Trichodina* spp. na pele, brânquias e nadadeira de tilápia do Nilo, submetidas a diferentes dietas contendo probióticos após 127 dias de cultivo em tanques-rede alocados em tanques sob baixa renovação de água (Mean values of prevalence (%) of *Monogenea* and *Trichodina* spp. in skin, gills and fins of Nile tilapia, subjected to different diets containing probiotics after 127 days of cultivation in cages allocated in tanks under low water renewal).

Órgão	Monogenea	<i>Trichodina</i> ssp.	
Pele	28,50 <sup>B</sup>	97,00 <sup>A</sup>	
Brânquias	84,25 <sup>A</sup>	8,00 <sup>B</sup>	
Nadadeiras	5,50 <sup>B</sup>	84,50 <sup>A</sup>	
	F= 13,862 p= 0,001	F= 13,672 p= 0,001	
Dieta			
T <sub>1</sub>	45,00	66,00	
T <sub>2</sub>	32,00	57,00	
T <sub>3</sub>	44,00	64,00	
T <sub>4</sub>	40,00	67,00	
	F= 0,172 p= 0,915	F= 0,077 p= 0,972	
Dieta	Órgão		
T <sub>1</sub>	Pele	30,00	88,00
	Brânquias	85,00	12,00
	Nadadeiras	10,00	85,00
T <sub>2</sub>	Pele	16,00	100,00
	Brânquias	80,00	4,00
	Nadadeiras	0,00	80,00
T <sub>3</sub>	Pele	48,00	100,00
	Brânquias	80,00	4,00
	Nadadeiras	4,00	85,00
T <sub>4</sub>	Pele	20,00	100,00
	Brânquias	92,00	12,00
	Nadadeiras	8,00	88,00
		F= 0,281 p= 0,943	F= 0,024 p= 0,999

T<sub>1</sub>= Ração basal sem adição de probióticos; T<sub>2</sub>= Ração adicionada de 0,5 % de *Bacillus cereus*; T<sub>3</sub>= Ração adicionada de 0,5 % de *Bacillus subtilis*; T<sub>4</sub>= Ração adicionada de 0,25 % de *B. subtilis* e 0,25 % de *B. cereus*.

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

pias. A pele e nadadeiras dos juvenis de tilápia do Nilo não apresentaram prevalência significativamente diferentes entre si para os parasitas *Monogenea* e *Trichodina* spp. Não houve efeito de interação entre o órgão e as dietas probióticas utilizando *Bacillus* sp. (**tabela I**).

Altas ocorrências de *Monogenea* e *Trichodina* sp. são geralmente indicações de condições sanitárias precárias, como deterioração da qualidade da água, alta quantidade de amônia ou nitrito, poluição orgânica ou baixo teor de oxigênio dissolvido e consequentemente estresse elevado. Os probióticos têm função de agir nestas condições e garantir um desenvolvimento mais saudável aos indivíduos, mas neste caso a dieta probiótica não foi suficiente para suprimir ou inibir a infestação destes ectoparasitas nos órgãos avaliados (**tabela**

**I**). A prevalência média de monogenóides neste estudo com juvenis de tilápia foram superiores aos encontrados por Martins *et al.* (2010) que compararam a fauna parasitária de tilápia do Nilo mantida em consorciação com suínos e alimentada com ração comercial mantida em pesque-pague no estado de Santa Catarina.

Os monogenóides possuem um aparelho de fixação, na parte posterior do corpo, chamado de haptor, uma estrutura em forma de âncora, composta de vários ganchos que provocam ferimento no local de fixação no hospedeiro (Thatcher, 2006; Pavanelli *et al.*, 2008; Eiras *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2012). Esses helmintos podem ser encontrados nas brânquias, superfície do corpo, nadadeiras e narinas, causando hemorragias e edemas nos filamentos branquiais, o que prejudica a respiração do hospedeiro (Eiras *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2012) e consequentemente desencadear um processo de estresse prejudicial ao desempenho zootécnico dos peixes.

Houve maior (p<0,001) incidência de *Gyrodactylus* spp. (71 %) nas brânquias das tilápias em comparação com a prevalência deste parasita na pele ou nadadeiras, enquanto que a infestação *Apiosoma* sp. foi maior (p<0,001) na pele dos juvenis. A prevalência média de *Epistylis* sp., *Ichthyophthirius multifiliis* e *Ambiphrya* spp. não apresentaram diferença significativa entre os órgãos avaliados (**tabela II**). Os *Monogenea* são organismos que na sua maioria parasitam as brânquias. Outro importante grupo de protozoários do Filo Ciliophora, destacando-se, os do gênero *Trichodina* sp. e o *Ichthyophthirius multifiliis* como ectocomensais no tegumento dos peixes, porém sem causarem grandes prejuízos, a não ser em grandes infestações (Zanolo e Yamamura, 2006). Estes fatos justificam os resultados encontrados no presente artigo demonstrando preferência de infestação por órgão devido aos hábitos dos parasitas (**tabelas I e II**). Verifica-se na **tabela II** a especificidade da incidência de *Gyrodactylus* spp. e *Apiosoma* sp. respectivamente para brânquias e pele, porém não foi constatado efeito de interação entre as dietas e os órgãos avaliados para os valores médios da prevalência de *Gyrodactylus* spp., *Apiosoma* sp., *Epistylis* sp., *Ichthyophthirius multifiliis* e *Ambiphrya* spp. Zago *et al.* 2014 avaliando os ectoparasitos em tilápia do Nilo criadas em tanques-redes no sudoeste do Brasil encontraram cinco espécies de protozoários (*Trichodina compacta*, *Trichodina magna*, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Piscinoodinium pillulare* e *Epistylis* sp.) e outras cinco espécies de monogenóides (*Cichlidogyrus halli*, *Cichlidogyrus thurstonae*, *Cichlidogyrus* sp., *Scutogyrus longicornis* e *Gyrodactylus* sp.). Os autores relacionaram as altas infestações parasitárias com as condições da qualidade da água, sazonalidade e as fases de crescimento das tilápias.

O fator de condição de Fulton (Kf) corresponde ao quociente entre o peso real e peso teoricamente esperado para um dado comprimento, considerando que seu crescimento seja isométrico (Rocha *et al.*, 2005). O fator de condição é um parâmetro importante para avaliar o crescimento e índice de massa corporal capaz de refletir as interações entre o ambiente e o peixe, o que pode indicar o bem-estar das espécies (Froese, 2006; Tavares-Dias *et al.*, 2008; Zanolo *et al.*, 2009). Os valores para o fator de condição (Kf) neste estudo foram maiores que o esperado (Kf>1) para a espécie estudada, porém não

**Tabela II.** Prevalência média (%) de ectoparasitas na pele, brânquias e nadadeiras de tilápia do Nilo, submetidas a diferentes dietas contendo probióticos (Mean values of prevalence (%) of ectoparasites on the skin, gills and fins of Nile tilapia, subjected to different diets containing probiotics).

Órgão	<i>Gyrodactylus</i> spp.	<i>Apiosoma</i> sp.	<i>Epistylis</i> sp.	<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	<i>Ambiphrya</i> spp.	
Pele	1,00 <sup>B</sup>	23,20 <sup>A</sup>	11,50	4,25	8,75	
Brânquias	71,00 <sup>A</sup>	8,04 <sup>B</sup>	4,25	2,25	5,50	
Nadadeiras	1,00 <sup>B</sup>	0,00 <sup>B</sup>	0,00	0,00	0,00	
	F= 1,233 p= 0,001	F= 10,48 p= 0,001	F= 2,554 p= 0,078	F= 0,709 p= 0,341	F= 1,478 p= 0,227	
<b>Dieta</b>						
$T_1$	25,33	12,32	10,33	3,33	8,33	
$T_2$	26,67	16,00	6,67	4,00	8,00	
$T_3$	24,00	5,33	1,33	1,33	1,33	
$T_4$	21,33	8,00	2,67	0,00	1,33	
	F= 0,294 p= 0,829	F= 1,255 p= 0,289	F= 0,942 p= 0,419	F= 0,191 p= 0,902	F= 0,883 p= 0,449	
<b>Dieta</b>	<b>Órgão</b>					
$T_1$	Pele	0,00	28,00	22,00	5,00	15,00
	Brânquias	76,00	8,16	9,00	5,00	10,00
	Nadadeiras	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$T_2$	Pele	0,00	32,00	16,00	8,00	12,00
	Brânquias	76,00	16,00	4,00	4,00	12,00
	Nadadeiras	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$T_3$	Pele	0,00	16,00	4,00	4,00	4,00
	Brânquias	72,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Nadadeiras	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$T_4$	Pele	4,00	16,00	4,00	0,00	4,00
	Brânquias	0,00	8,00	4,00	0,00	0,00
	Nadadeiras	60,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		F= 0,074 p= 0,998	F= 0,530 p= 0,783	F= 0,760 p= 0,604	F= 0,499 p= 0,806	F= 0,554 p= 0,765

$T_1$ = Ração basal sem adição de probióticos;  $T_2$ = Ração adicionada de 0,5 % de *Bacillus cereus*;  $T_3$ = Ração adicionada de 0,5 % de *Bacillus subtilis*;  $T_4$ = Ração adicionada de 0,25 % de *B. subtilis* e 0,25 % de *B. cereus*.

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

sofreu influência ( $p > 0,05$ ) da adição de probiótico nas dietas avaliadas (**tabela III**). Wanderson Pantoja *et al.* (2012), a exemplo do presente estudo, porém avaliando o fator relativo de condição (Kn) também não encontraram influência da fauna parasitária com metazoários e protozoários em tilápia do Nilo.

Em estudos preliminares destacou-se a contribuição de *Bacillus* para a redução relativa na conversão alimentar (13,78 %) em tilápia cultivadas com dieta contendo *B. subtilis* C-3102 (Moura, 2011). É evidente que a capacidade de determinadas espécies de *Bacillus* em sintetizar proteases e outras enzimas capazes de melhorar a digestão no hospedeiro (Sahu *et al.*, 2008), de modo a suprimir a proliferação de microrganismos oportunistas (Gillor *et al.*, 2008) na microflora intestinal e redução do estresse nos peixes (Mohapatra *et al.*, 2013). Possivelmente, um melhor aproveitamento do potencial nutricional da alimentação e um melhor estado de saúde dos peixes alimentados com adição de *B. subtilis* na dieta pode explicar a redução na con-

versão alimentar. Além de representar uma economia significativa no custo para se alimentar, também é uma vantagem ambiental, pois resulta em menor aporte de nutrientes para o ambiente dos tanques (Wild *et al.*, 2014).

Com relação aos valores de glicose não foi verificada alteração significativa com a adição dos probióticos entre as dietas utilizadas. Os valores médios de glicose foram significativamente menores para os animais que receberam as dietas contendo probiótico, em relação àqueles que receberam a ração isenta ( $T_1$ ), sugerindo que os indivíduos tiveram sua homeostase modificada, alterando suas respostas fisiológicas na tentativa de se adaptar a esta condição de parasitose (**tabela III**). Segundo Biswas *et al.* (2004), a tilápia do Nilo, quando em situação de estresse, apresentaram valores de glicose e cortisol de 160,2 mg/dL e 191,7 mg/dL, respectivamente. O cortisol, principal corticosteroide em peixes, é considerado um bom indicador para avaliação de estresse primário (Mommsen *et al.*, 1999). Um bom

**Tabela III.** Valores médios do desempenho e do perfil bioquímico de glicose e cortisol e valores do fator de condição de Fulton Kf, comprimento e peso para tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo probióticos (Mean values of performance and biochemical profile of glucose and cortisol values and the Fulton condition factor Kf, length and weight for Nile tilapia fed diets containing probiotics).

Variável	Dieta				CV (%)
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	
Peso (g)	89,52 ± 16,87	88,95 ± 16,59	100,52 ± 8,14	87,63 ± 11,39	23,20
Comprimento (cm)	18,72 ± 1,77	18,31 ± 1,81	18,45 ± 1,93	17,78 ± 1,69	9,83
Kf	1,37 ± 0,21	1,45 ± 0,16	1,6 ± 0,07	1,52 ± 0,23	10,22
Glicose (mg/dL)	199,45 ± 28,9 <sup>A</sup>	104,35 ± 78,16 <sup>B</sup>	69,60 ± 21,87 <sup>B</sup>	90,60 ± 30,90 <sup>B</sup>	38,73
Cortisol (mg/dL)	23,74 ± 17,26	24,44 ± 12,54	14,94 ± 9,77	20,17 ± 9,43	56,05

T<sub>1</sub>= Ração basal sem adição de probióticos; T<sub>2</sub>= Ração adicionada de 0,5 % de *Bacillus cereus*; T<sub>3</sub>= Ração adicionada de 0,5 % de *Bacillus subtilis*; T<sub>4</sub>= Ração adicionada de 0,25 % de *B. subtilis* e 0,25 % de *B. cereus*.

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

indicador para respostas secundárias são as alterações nos níveis de glicose e o lactato (Barton *et al.*, 2002), enquanto que as respostas terciárias são caracterizadas pelo baixo desempenho zootécnico das tilápias, incluindo o aumento da suscetibilidade a doenças.

A concentração de glicose foi maior (p<0,05) nos indivíduos alimentados com a dieta isenta de aditivos, em relação aos que tiveram probióticos adicionados à dieta. A utilização das dietas com apenas um dos probióticos (T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>) ou a combinação de ambos (T<sub>4</sub>) pode resultar na menor mobilização na quantidade de glicose na circulação sanguínea, portanto deve ter proporcionado menor nível de estresse aos peixes. Pode-se verificar que a utilização de dieta isenta de probióticos aumentou a mobilização de glicose (**tabela III**), sugerindo que os indivíduos tiveram sua homeostase modificada, alterando suas respostas fisiológicas na tentativa de se adaptar a esta condição. Elevados níveis glicêmicos foram também observados por Ishibashi *et al.* (2002) ao submeterem alevinos de tilápia do Nilo a condições de estresse, criadas em ambiente com baixa concentração de oxigênio. Os resultados encontrados para o perfil bioquímico de glicose, neste trabalho, sugere-se que, o peixe alimentado com dieta basal isenta de probióticos (T<sub>1</sub>) pode mobilizar mais glicose para adequar-se, em resposta aos agentes estressantes que se encontravam no meio de cultivo.

## CONCLUSÕES

Os probióticos dietários *Bacillus cereus* e/ou *Bacillus subtilis* não resultaram em efeito de interação dieta/órgão para os valores da incidência de ectoparasitas na pele, brânquias e nadadeiras dos peixes. A pele e nadadeiras dos juvenis de tilápia do Nilo são os órgãos avaliados que apresentam maior infestação parasitária por *Trichodina* spp., enquanto que as brânquias albergam maior infestação de *Monogenea*.

O estado de saúde dos juvenis de tilápia do Nilo monitorado por meio do perfil bioquímico de glicose e cortisol e do fator de condição Kf não é influenciado pela adição de probióticos *Bacillus* sp. na dieta.

## AGRADECIMENTOS

À empresa Algomix® Agroindustrial pelo fornecimento da ração, ao Instituto de Pesquisas em Aquicultura Ambiental (InPAA) pela disponibilização dos tanques e ao Grupo de Estudo em Tilapicultura (GET) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná pelos serviços prestados durante o experimento.

## BIBLIOGRAFIA

- Albuquerque, D.M.; Marengoni, N.G.; Boscolo, W.R.; Ribeiro, R.P.; Mahl, I. e Moura, M.C. 2013. Probióticos em dietas para tilápia do Nilo durante a reversão sexual. *Cienc Rural*, 43: 1503-1508.
- Balcázar, J.L.; De Blas, I.; Ruiz-Zarzuela, I.; Cunningham, D.; Vendrell, D. and Múzquiz, J.L. 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Vet Microbiol*, 114: 173-186.
- Barton, B.A.; Morgan, J.D. and Vijayan, M.M. 2002. Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish. In: Adams (ed.). *Biological indicator of aquatic ecosystem stress*. Bethesda, Maryland. pp. 111-148.
- Biswas, A.K.; Maita, M.; Yoshizaki, G. and Takeuchi, T. 2004. Physiological responses in Nile tilapia exposed to different photoperiod regimes. *J Fish Biol*, 65: 811-821.
- Boyd, C.E. 2005. Farm-level issues in aquaculture certification: Tilapia. Report commissioned by World Wildlife. North Carolina. US. 29 pp.
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D. and Lotz, J.M. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *J Parasitol*, 83: 575-583.
- Dias, D.C.; Leonardo, A.F.G.; Tachibana, L.; Corrêa, C.F.; Bordon, I.C.A.C.; Romagosa, E. and Ranzani-Paiva, M.J.T. 2012. Effects of incorporating probiotic into the diet of matrinxã (*Brycon amazonicus*) breeders. *J Appl Ichthyol*, 28: 40-45.
- Eiras, J.C.; Takemoto, R.M. e Pavanelli, G.C. 2006. Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes. 2ª ed. Eduem. Maringá. 199 pp.
- Eiras, J.C.; Takemoto, R.M. e Pavanelli, G.C. 2010. Diversidade dos parasitos de peixes de água doce do Brasil. Clichetec. Maringá. 333 pp.
- El-Sayed, A.F.M. 2006. Tilapia culture. CABI Publishing. Cambridge. 277 pp.
- Falcon, D.R.; Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Solarte, W.V.N. e Guimarães, I.G. 2008. Leucograma da tilápia do Nilo arraçoadada com dietas suplementadas com níveis de vitamina C e lipídeo submetidos a estresse por baixa temperatura. *Cienc Anim Bras*, 9: 543-555.
- Froese, R. 2006. Cube law, condition factor and weight-length relationship: history, meta-analysis and recommendations. *J Appl Ichthyol*, 22: 241-253.
- Garcia, F.; Schalch, S.H.C.; Onaka, E.M.; Fonseca, F.S. e Batista, M.P. 2012. Hematologia de tilápia-do-nilo alimentada com suplemento à

- base de algas frente a desafios de estresse agudo e crônico. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 64: 198-204.
- Gillor, O.; Etzion, A. and Riley, M.A. 2008. The dual role of bacteriocins as antiand probiotics. *Appl Microbiol Biotechnol*, 81: 591-606.
- Ghiraldelli, L.; Martins, M.L.; Jerônimo, G. T.; Yamashita, M.M. and Adamante, W.B. 2006. Ectoparasites communities from *Oreochromis niloticus* cultivated in the state of Santa Catarina, Brazil. *Acta Sci Biol Sci*, 28: 319-325.
- Ishibashi, Y.; Ekawa, H.; Hirata, H. and Kumai, H. 2002. Stress response and energy metabolism in various tissues of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to hypoxic conditions. *Fisheries Sci*, 68: 1374-1383.
- Jerônimo, G.T.; Speck, G.M.; Cechinel, M.M.; Gonçalves, E.L.T. and Martins, M.L. 2011. Seasonal variation on the ectoparasitic communities of Nile tilapia cultured in three regions in Southern Brazil. *Braz J Biol*, 71: 365-373.
- Kesarcodi-Watson, A.; Kaspar, A.H.; Lategan, M.J. and Gibson, L. 2008. Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274: 1-14.
- Kritsky, D.C. and Boeger, W.A. Neotropical Monogenoidea. 1994. Dactylogyridae of cichlids (Perciformes) from the Yucatán Peninsula, with descriptions of three new species of *Sciadicleithrum* Kritsky, Thatcher and Boeger, 1989. *J Helminthol*, 61: 26-33.
- Marengoni, N.G.; Santos, R.S.; Gonçalves Junior, A.C. Gino, D.M.; Zerbiniatti, D.C.P e Lima, F.S. 2009. Monogenoidea (Dactylogyridae) em tilápia do Nilo cultivadas sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 61: 393-400.
- Martins, M.L.; Azevedo, T.M.P.; Ghiraldelli, L. and Bernardi, N. 2010. Can the parasitic fauna on Nile tilapias be affected by different production systems? *An Acad Bras Cienc*, 82: 493-500. <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652010000200024> (12/03/2015).
- Mohapatra, S.; Chakraborty, T.; Kumar, V.; Deboeck, G. and Mohanta, K.N. 2013. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 97: 405-430.
- Mommsen, T.P.; Vijayan, M.M. and Moon, T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev Fish Biol Fisheries*, 9: 211-268.
- Moura, M.C. 2011. *Bacillus cereus* var. *Toyoi* e *Bacillus subtilis* C-3102 no cultivo de tilápia do Nilo da linhagem GIFT. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca e Recursos Pesqueiros. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo. 58 pp.
- Nakandakare, I.B.; Iwashita, M.K.P.; Dias, D.C.; Tachibana, L.; Ranzani-Paiva, M.J.T. e Romagosa, E. 2013a. Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilápias-do-Nilo: parâmetros hematológicos, imunológicos e microbiológicos. *Bol Inst Pesca*, 39: 121-135.
- Nakandakare, I.B.; Iwashita, M.K.P.; Dias, D.C.; Tachibana, L.; Ranzani-Paiva, M.J.T. and Romagosa, E. 2013b. Growth performance and intestinal histomorphology of Nile tilapia juveniles fed probiotics. *Acta Sci Anim Sci*, 35: 365-370.
- Nayak, S.K. 2010. Probiotics and immunity: A fish perspective. *Fish Shellfish Immunol*, 29: 2-14.
- Okamura, D.; Araujo, F.G.; Logato, P.V.R.; Murgas, L.D.S.; Freitas, R.T.F. e Araújo, R.V. 2007. Efeitos da vitamina C sobre o hematócrito e glicemia de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em transporte simulado. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 59: 883-888.
- Pavanelli, G.C.; Eiras, J.C. e Takemoto, R.M. 2008. Doença de peixes, profilaxia, diagnóstico e tratamento. 3ª ed. Eduem. Maringá. 311 pp.
- Rocha, M.A.; Ribeiro, E.L.A.; Mizubuti, I.Y.; Silva, L.D.F.; Borosky, J.C. e Rubin, K.C.P. 2005. Uso do fator de condição alométrico e de Fulton na comparação de carpa (*Cyprinus carpio*), considerando os sexos e idade. *Semina Ciênc Agrár*, 26: 429-434.
- SAS. SAS/STAT statistical analyses system. 2000. User's guide. Version 8.2. 4.ed. v.2. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Sahu, M.K.; Swarnakumar, N.S.; Sivakumar, K.; Thangaradjou, T. and Kannan, L. 2008. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. *Indian J Microbiol*, 48: 299-308.
- Silley, P. 2006. Do bacteria need to be regulated? *J Appl Microbiol*, 101: 607-615.
- Tavares-Dias, M.; Marcon, J.L.; Lemos, J.R.G.; FIM, J.D.I.; Affonso, E.G e Ono, E.A. 2008. Índices de condição corporal em juvenis de *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829) e *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) na Amazônia. *Bol Inst Pesca*, 34: 197-204.
- Thatcher, V.E. 1991. Amazon fish parasites. *Amazoniana*, 11: 263-572.
- Thatcher, V.E. 2006. Amazon fish parasites. 2.ed. Pensoft Publishes. Sofia. Moscow. 508 pp.
- Vidal, L.V.O.; Albinati, R.C.B.; Albinati, A.C.L.; Lira, A.D.; Almeida, T.R. e Santos, G.B. 2008. Eugenol como anestésico para a tilápia do Nilo. *Pesq Agropec Bras*, 43: 1069-1074.
- Wanderson Pantoja, M.F.; Ligia Neves, R.; Márcia Dias, R.D., Renata Marinho, G.B., Montagner, D. and Tavares-Dias, M. 2012. Protozoan and metazoan parasites of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in Brazil. *Rev MVZ Cordoba*, 17: 2812-2819.
- Wild, M.B.; Marengoni, N.G.; Vivian, M.M.P.S.; Tsutsumi, C.Y. e Moura, M.C. 2014. Probiótico dietético em sistemas de produção de tilápia do Nilo: efeitos sobre o crescimento, balanço de N e P, retenção de nutrientes e viabilidade econômica. *Semina Ciênc Agrár*, 35: 477-490.
- Zago, A.C.; Franceschini, L.; Garcia, F.; Schalch, S.H.C.; Gozi, K.S. and Silva, R.J. 2014. Ectoparasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage farming in a hydroelectric reservoir in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*, 23: 171-178.
- Zanolo, R. e Yamamura, M. H. 2006. Parasitas em tilápias do Nilo criadas em sistema de tanques-rede. *Semina Ciênc Agrár*, 27: 281-288.
- Zanolo, R.; Leonhardt, J.H., Souza, A.T.S. e Yamamura, M.H. 2009. Influência do parasitismo por monogeneas no desenvolvimento de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1757) criadas em sistemas de tanques-rede na represa de Capivara, PR. *Rev Bras Parasitol Vet*, 18: 47-52.