

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
ENGENHARIA DE PESCA

IURY WALYSSON DE AMORIM MELO

Sangrovit® em dietas para tilápias do Nilo

Toledo

2016

IURY WALYSSON DE AMORIM MELO

Sangrovit® em dietas para tilápias do Nilo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo

Toledo

2016

Ficha Catalográfica

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.

Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

M528s Melo, Iury Walysson de Amorim
 Sangrovit® em dietas para tilápias do Nilo / Iury Walysson de Amorim
Melo. -- Toledo, PR : [s. n.], 2016

74 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo

Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca)
Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo. Centro de
Engenharias e Ciências Exatas.

1. Aqüicultura 2. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) – Alimentação
e rações - Aditivos 3. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) – Nutrição 4.
Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) - Digestibilidade 5. Nutrição animal
6. Aditivos alimentares - Peixes 7. Sangrovit® (Aditivo fitogênico) I.
Boscolo, Wilson Rogério, orient. II. T

CDD 20. ed. 639.3758

FOLHA DE APROVAÇÃO

IURY WALYSSON DE AMORIM MELO

Sangrovit® em dietas para tilápias do Nilo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

Prof. Dr. Altevir Signor
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Eduardo Luis Cupertino Ballester
Universidade Federal do Paraná

Aprovada em:
Local de defesa:

Sangrovit® em dietas para tilápias do Nilo

RESUMO

Os aditivos fitogênicos vêm apresentando resultados positivos em substituição aos produtos químicos como os antibióticos na produção animal, pois não apresentam efeitos acumulativos no músculo nem favorecem a seleção de bactérias super-resistentes. O experimento foi conduzido em duas etapas. A primeira etapa objetivou avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDa) da proteína, lipídeos, energia e matéria mineral de 180 tilápias ($40,0 \pm 5,7$ g) alimentadas com três dietas (0; 100; e 200 mg kg⁻¹) e quatro repetições, durante 30 dias. O segundo experimento objetivou determinar a inclusão ideal do aditivo através do desempenho produtivo, e realizadas análises: hematológicas, composição centesimal da carcaça, bem como morfometria do músculo e intestino. Foram utilizados 240 alevinos com peso médio de $1,07 \pm 0,07$ g, distribuídos aleatoriamente em 30 tanques de 138 litros, em sistema de recirculação, equipado com filtro mecânico, biológico e lâmpada ultravioleta para limpeza da água, durante 60 dias. O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso com cinco tratamentos (0; 50; 100; 150 e 200 mg kg⁻¹ de aditivo) e seis repetições, sendo cada unidade experimental composta por oito peixes. Em ambos os experimentos as dietas apresentavam aproximadamente 38% de proteína bruta e 3000 kcal de energia digestível. Avaliou-se o desempenho zootécnico (ganho em peso, conversão alimentar aparente, ganho em peso diário, taxa de eficiência proteica, fator de condição, sobrevivência, eficiência de retenção proteica, gordura visceral, índice hepatossomático, taxa de crescimento específico e uniformidade do lote), a composição centesimal dos peixes (umidade, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas), os índices hematológicos, as distribuições das fibras musculares e morfometria das vilosidades intestinais (altura do vilo e espessura do epitélio). Os CDAs apresentaram diferenças significativas positivas ($p < 0,05$) entre os tratamentos. Para os parâmetros zootécnicos, hematológicos, centesimais e histológicos não foram observadas diferenças entre os tratamentos. Conclui-se que 100 mg kg⁻¹ do aditivo Sangrovit® melhora o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína, lipídeos, energia e matéria mineral para tilápias.

Palavras-chave: Sangrovit®. Nutrição. Digestibilidade. Desempenho zootécnico.

Sangrovit® in diets for Nile tilapia

ABSTRACT

The phytogenic additives have shown positive results in chemicals replacement such as antibiotics in animal production, because it does not have cumulative effects on muscle and does not favor the selection of super-resistant bacteria. The experiment was conducted in two stages. The first stage aimed to evaluate the apparent digestibility coefficients (ADC) of protein, lipids, energy and mineral matter in 180 tilapia fish ($40.0 \pm 5.7\text{g}$) fed with three diets (0; 100; and 200 mg kg^{-1}) and four replications along 30 days. The second experiment aimed to determine the optimal inclusion of the additive through productive performance and by conducting hematologic, carcass centesimal composition analyses, as well as muscle and intestine morphometry. 240 fingerlings with average weight of $1.07 \pm 0.07\text{g}$ were randomly distributed in 30 tanks of 138 liters, in recirculation system equipped with mechanical, biological filter and ultraviolet light to purify water for 60 days. The design was completely randomized with five treatments (0; 50; 100; 150 and 200 mg kg^{-1} additive) and six repetitions, each experimental unit consisting of eight fish. In both experiments the diets had approximately 38% crude protein and 3000 kcal of digestible energy. Growth performance (weight gain, feed conversion, daily weight gain, protein efficiency ratio, condition factor, survival, protein retention efficiency, visceral fat, hepatosomatic index, specific growth rate and lot uniformity), fish centesimal composition (moisture, crude protein, ether extract and ash), hematological indices, muscle fibers distribution and intestinal villus morphometry (villus height and epithelium thickness) were evaluated. The ADCs showed significant positive differences ($p < 0.05$) between treatments. According to zootechnical, hematological, centesimal and histological parameters no differences were observed between treatments. We concluded that 100 kg^{-1} of Sangrovit® additive improves the apparent digestibility coefficient of protein, lipid, energy and mineral matter for tilapia.

Keywords: Sangrovit®. Nutrition. Digestibility. Growth performance.

Dissertação elaborado e formatado conforme as normas da publicação científica *Aquaculture Research*. Disponível em: <[http://onlinelibrary.wiley.com/journal/ 10.1111/\(ISSN\)1365-2109](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2109)>*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	8
2. OBJETIVOS	9
2.1. Objetivo geral	9
2.2. Objetivos específicos	9
3. REVISÃO DE LITERATURA	9
3.1. Situação da Aquicultura Mundial	9
3.2. Situação da Aquicultura Brasileira	10
3.3. Produção de Tilápia	11
3.4. Nutrição na Aquicultura.....	12
3.5. Aditivos.....	12
3.6. Aditivos Fitogênicos	14
3.7. Efeito Imunoestimulante	16
3.8. Efeito sobre a integridade gastrointestinal e como promotores de crescimento	17
3.9. Alcalóides	18
3.10. Sangrovit	19
3.11. Referências bibliográficas	20
CAPITULO 1: Sangrovit® em dietas para tilápias do Nilo.....	43
1. Introdução.....	43
2. Material e Métodos	45
2.1. Dietas experimentais	45
2.2. Digestibilidade	46
2.3. Desempenho e hematologia	47
2.4. Análises químicas.....	48
2.5. Análises histológicas	49
2.6. Análise estatística.....	50
3. Resultados.....	50
3.1. Digestibilidade	50
3.2. Desempenho	51
4. Discussão	52
4.1. Digestibilidade	52
4.2. Desempenho	54
5. Agradecimentos	57
6. Referências bibliográficas	57

1. INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura é um dos setores de produção de proteína animal que mais cresce em relação a outros setores do mesmo segmento. Acredita-se que a produção pesqueira e aquícola mundial, em um cenário otimista, será de aproximadamente 195 milhões de toneladas em 2022. Desse montante, 99 milhões de toneladas será proveniente da aquicultura, podendo, nos próximos anos ultrapassar a bovinocultura, suinocultura e avicultura (FAO, 2014). Tal crescimento está associado à necessidade de alimentos proteicos e de alto valor biológico por parte da crescente população mundial (Zanardi, 2011).

Na piscicultura uma das espécies com maior destaque é a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) devido ao rápido desempenho e rusticidade (Boscolo et al., 2001), elevado rendimento de filé, ausência de espinhas intramusculares e excelente aceitação pelo mercado consumidor (Hildsorf, 1995). Além da capacidade de aceitação de ração desde as primeiras fases de vida (Boscolo et al., 2004), sendo esta a principal fonte de alimentação durante o período de criação.

A ração é responsável pela maior parte dos custos da produção de peixes em cativeiro, sendo importante formular dietas equilibradas, de baixo custo e que maximizem a absorção dos nutrientes pelos animais, além de reduzir as excreções de elementos que potencializam a eutrofização nos corpos de água (Oliveira et al., 2014).

Em conjunto com as dietas balanceadas, alguns suplementos alimentares também podem auxiliar positivamente, sendo conhecidos como “aditivos nutricionais”. Estes possuem a capacidade de assegurar condições para que os animais expressem o seu máximo potencial genético de produção de carne e maior resistência a doenças, sem apresentar grandes custos de produção (Brito et al., 2014).

Visando a otimização dos sistemas de produção animal, os antibióticos têm sido utilizados como promotores de crescimento nas dietas (Araujo et al., 2007). Porém, estudos relacionados ao uso de antibiótico mostram que esse tipo de aditivo acaba selecionando bactérias patogênicas multirresistentes, que podem ser prejudiciais à saúde humana (Catalan et al., 2012).

Dessa forma, aditivos de origem vegetal, mais conhecidos como fitogênicos vêm ganhando espaço em substituição aos antibióticos, pois atuam na integridade intestinal, como promotores de crescimento e como imunostimulantes, sem apresentar riscos a saúde dos consumidores (Putra et al., 2013).

Devido a relevante importância do uso dos aditivos fitogênicos na produção animal, em especial para tilápias do Nilo por ser a espécie de maior produção nacional, o conhecimento acerca dos níveis de inclusão e seus efeitos sobre a fisiologia do organismo dessa espécie justificam a execução do presente trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1.Objetivo geral

Avaliar a influência de diferentes níveis de Sangrovit® na digestibilidade e no desempenho produtivo de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2.2.Objetivos específicos

- Avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína, lipídeos, energia e matéria mineral de dietas suplementadas com Sangrovit® para juvenis de tilápia do Nilo;
- Avaliar o desempenho zootécnico de juvenis de tilápias, submetidos a dietas contendo diferentes níveis de Sangrovit®;
- Avaliar as respostas hematológicas de juvenis de tilápias, alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Sangrovit®;
- Analisar a composição centesimal de juvenis de tilápias, submetidos a dietas contendo diferentes níveis de Sangrovit®;
- Estudar a contribuição do Sangrovit® no crescimento muscular de juvenis de tilápias, por meio da análise de frequência de distribuição das fibras musculares;
- Estudar a contribuição do Sangrovit® na morfometria do intestino de juvenis de tilápias, por meio da avaliação da altura das vilosidades e espessura do epitélio.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1.Situação da Aquicultura Mundial

A prática da aquicultura é quase tão antiga quanto à agricultura, sendo seu uso mencionado por antigas civilizações pelo mundo. Há registros históricos evidenciando a

técnica em documentos e manuscritos chineses datados de séculos remotos e por hieróglifos egípcios, há mais de 2.000 anos antes de cristo. Porém, esta atividade ganhou destaque e intensificação somente no final do século XX, permitindo prever que mais da metade da produção de pescado no mundo será oriundo da atividade (Oliveira, 2009).

De acordo com a Lei Federal nº 11.959, de 29 de junho de 2009, a aquicultura é definida como o cultivo de organismos cujo ciclo de vida em condições naturais se dá total ou parcialmente em meio aquático, implicando a propriedade do estoque sob cultivo, equiparada à atividade agropecuária. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), a aquicultura é caracterizada pelo manejo na produção cuja criação tem um proprietário, ou seja, não é um bem coletivo como os recursos pesqueiros que são passíveis de exploração (Rana, 1997).

De acordo com a FAO (2014), a produção mundial de pescados em 2012 foi de aproximadamente 158 milhões de toneladas, sendo 21,8 milhões para uso não alimentar e 136,2 milhões de toneladas para uso alimentar. Deste montante a aquicultura teve uma participação de 66,6 milhões de toneladas. Para o ano de 2000, a produção aquícola mundial foi de 32,4 milhões de toneladas, ou seja, nos últimos 12 anos a produção praticamente dobrou, com um incremento anual médio de 6,7%, tornando a aquicultura o segmento de produção animal de maior crescimento atualmente. As projeções para produção aquícola mundial em 2030 são de 93,61 milhões de toneladas, sendo este valor responsável por 61,68% de toda produção pesqueira do mundo (World Bank, 2013).

A Ásia é o continente com maior produção de organismos aquáticos no cenário atual (89,39%), seguida das Américas (4,78%), Europa (4,32%), África (2,23%) e Oceania (0,28%). Porém, ao levar em conta as taxas de crescimento da aquicultura por continente no período de 2000-2012, a Ásia teve maior crescimento (13,7%), seguida da África (11,7%), Américas (10%), Europa (-2,9%) e Oceania (-3,5%) (FAO, 2014).

Atualmente o Brasil ocupa a 12ª posição do ranking aquícola mundial, com apenas 707.461 toneladas, e a 2ª posição do ranking das Américas, com uma produção menor do que a do Chile (1.071.421 toneladas) (FAO, 2014).

3.2.Situação da Aquicultura Brasileira

O Brasil tem potencial para tornar-se um dos maiores produtores de pescado do mundo, devido à quantidade de água disponível, clima e geografia favorável, grande biodiversidade e fronteiras de áreas de pesca extrativa que ainda não são exploradas, além de possuir uma costa

de 8,4 mil quilômetros, 5,5 hectares de reservatórios de água doce, terras disponíveis, mão de obra relativamente barata e crescente mercado interno (ACEB, 2014).

De acordo com o mais recente Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura do Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA (2013), a atividade pesqueira gera um produto interno bruto (PIB) nacional de R\$ 5 bilhões, mobiliza 800 mil profissionais e proporciona 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos. O referido ministério tem como meta para os anos futuros, até 2030, incentivar a produção nacional para o Brasil alcançar a expectativa da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), com produção de 20 milhões de toneladas de pescado por ano.

Dentre as espécies atualmente criadas em cativeiro no Brasil, a maioria são exóticas. O principal estímulo para criação destas espécies parece estar mais relacionado à existência de informações básicas para a criação do que às características das espécies. A legislação brasileira limita a criação de espécies exóticas nos diferentes corpos d'água, exceto quando a espécie já esteja comprovadamente detectada em uma bacia hidrográfica, de acordo com portaria do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 2015).

A região Sul é a maior produtora de pescados na aquicultura de água doce do território brasileiro, seguida da região Nordeste, Norte, Sudeste e Centro-Oeste. A tilápia é a espécie mais cultivada (MPA, 2013).

3.3. Produção de Tilápia

As tilápias são representantes da ordem dos Perciformes, família Cichlidae e originárias da África, Israel e Jordânia. Foram difundidas a partir dos anos 60, sendo produzidas em climas tropicais e subtropicais. Adaptaram-se aos mais diversos modelos de produção e a diferentes níveis de salinidade da água, devido ao seu processo de domesticação, aceitabilidade para comercialização e tecnologias de produção amplamente conhecidas. No Brasil, as tilápias foram introduzidas por meio da espécie pura *Oreochromis niloticus*, popularmente conhecida como tilápia do Nilo ou tilápia nilótica, e seus híbridos *O. urolepsis hornorum* e *O. mossambicus*. A partir de 2010 foi considerada o segundo grupo de peixes mais produzido no mundo, perdendo apenas para as carpas (Moro et al., 2013).

Atualmente, a tilápia do Nilo é a espécie mais utilizada em projetos de aquicultura no Brasil. No ano de 2011 sua produção foi de 253 mil toneladas, representando 46,6% da produção aquícola nacional (MPA, 2013).

A perspectiva de crescimento na produção desta espécie também se deve a ótima qualidade de sua carne, excelente aceitação pelo mercado consumidor e, por não apresentar espinhas em forma de “Y” é uma espécie apropriada para a indústria de filetagem, elevando de forma mais contundente o seu potencial para piscicultura (Boscolo et al., 2009).

O bom desempenho na criação da tilápia deve-se ao seu rápido crescimento, rusticidade ao manejo, resistência à doenças, sendo também tolerante às altas densidades de estocagem e baixos teores de oxigênio dissolvido, associado a plasticidade quanto ao uso da proteína da dieta, respondendo à ingestão de proteínas de origem vegetal e animal com mesma eficiência, dentre outras características (Moreira et al., 2007; Takishita et al., 2009).

3.4. Nutrição na Aquicultura

Nos últimos anos a nutrição vem ganhando destaque por seus efeitos sobre o desempenho, a resistência e a saúde dos animais submetidos a sistemas intensivos de produção, que dependem exclusivamente de alimentação externa para o crescimento. Também pela sua real importância no orçamento de projetos de pisciculturas, sendo a ração responsável por aproximadamente 70% dos custos de produção (Lima, 2013).

Suprir os níveis de exigência nutricional para uma espécie por meio da dieta é de grande importância, pois mantêm saciadas todas as funções necessárias para o crescimento ótimo e a resistência ao estresse gerado pelo sistema de criação. Consequentemente melhora a saúde e sobrevivência dos animais (Bomfim, 2013; Cavalheiro et al., 2014; Cyrino et al., 2010; Hisano et al., 2007a; Honorato et al., 2013).

Em conjunto com as dietas balanceadas, alguns suplementos alimentares também podem auxiliar positivamente, sendo conhecidos como “aditivos nutricionais”. Estes possuem a capacidade de assegurar condições para que os animais expressem o seu máximo potencial genético de produção de carne e maior resistência a doenças, sem apresentar grandes custos de produção (Araujo et al., 2007; Brito et al., 2014; Melo et al., 2010).

3.5. Aditivos

Diversos estudos vêm sendo realizados com o intuito de utilizar aditivos para dietas animais, a exemplo dos **antibióticos** (Araujo et al., 2007), **prebióticos** (Cyrus et al., 2015; Hoseinifar et al., 2014; Mörschbacher et al., 2014; Sado et al., 2014; Salvador et al., 2013; Schwarz et al., 2010; Sivagnanavelmurugan et al., 2015), **probióticos** (Duarte et al., 2014;

Lee et al., 2015; Marengoni et al., 2014; Telli et al., 2014; Wild et al., 2014; Zhang et al., 2015, 2014), **simbióticos** (Abid et al., 2013; Akrami et al., 2015; Bolívar Ramírez et al., 2013; Brito et al., 2014; Hassaan et al., 2014; Lewandowski, 2014; Santos et al., 2008; Zhang et al., 2015), **enzimas** (Bock et al., 2007; Goulart et al., 2013; Ma et al., 2015; Silva et al., 2008), **leveduras** (Costa, 2004; Hisano et al., 2007b; Pardo-gamboa et al., 2011; Signor et al., 2010), **algas** (Alves Filho et al., 2011; Garcia et al., 2009; Gomes et al., 2012; Myung et al., 2016; Sirirustananun et al., 2011), **aglutinantes** (Cantelmo et al., 2002, 1999), **fitogênicos** (Ahmad and Abdel-Tawwab, 2011; Couto et al., 2015; Cupp et al., 2016; Gharib Naseri et al., 2012; Harikrishnan et al., 2011, 2010; Radhakrishnan et al., 2015; Reverter et al., 2014; Tang et al., 2014), entre outros.

Por vários anos os antibióticos estão sendo utilizados na produção animal, principalmente para melhorar o ganho em peso e, seu uso tem proporcionado resultados satisfatórios. Porém, cada vez mais, estão sendo mal vistos na produção de carne no mundo. Vários países não compram carnes que passaram por ação de antibióticos em seu processo de produção e, a crescente preocupação dos consumidores quanto à aquisição de alimentos seguros, também tem afetado o poder de decisão de compra sobre estes produtos. Isto é devido ao fato de que o uso dos antibióticos como promotores de crescimento acabam selecionando bactérias patogênicas multirresistentes, que podem ser prejudiciais à saúde humana (Bricknell and Dalmo, 2005; Catalan et al., 2012; Souto et al., 2015; Verschuere et al., 2000). Devido a essa rejeição aos antibióticos, vários produtos alternativos estão sendo estudados como possíveis substitutos, mantendo as características de produtividade, possibilitando o desenvolvimento de animais mais saudáveis.

Prebióticos são substratos que favorecem a proliferação de bactérias benéficas à flora intestinal dos animais, eliminando por competição bactérias indesejáveis e, conseqüentemente, melhorando a saúde e as respostas zootécnicas em ambientes de produção (Hoseinifar et al., 2014; Mörschbacher et al., 2014). Algas marrons (*Ascophyllum nodosum*) são utilizadas como substrato para o equilíbrio da flora intestinal em peixes, sendo 1% a melhor inclusão na dieta (Alves Filho et al., 2011). Mananoligossacarídeo (MOS) também é utilizado como prebiótico em dietas para tilápias, sendo sua inclusão abaixo de 1% nas formulações (Mörschbacher et al., 2014; Schwarz et al., 2011, 2010).

Os probióticos são aditivos formados por organismos e substâncias de origem bacteriana que contribuem para o equilíbrio da flora intestinal, favorecendo o crescimento dos animais e a resistência à doenças. Bactérias como *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis*, e *Bacillus cereus* são utilizados como probióticos para peixes

(Albuquerque et al., 2013; Carvalho et al., 2011; Cornélio et al., 2013; Dias et al., 2012; Dotta et al., 2011; Iwashita, 2012; Mello et al., 2013). Albuquerque et al. (2013) e Mello et al. (2013) encontraram valores ótimos variando de 0,4 a 1% de inclusão de bactérias do gênero *Bacillus* como probióticos na alimentação de tilápias e matrinxã (*Brycon amazonicus*).

São conhecidos como simbióticos, produtos oriundos da mistura de prebióticos com probióticos. Essa mistura vem despertando interesse dos produtores e da comunidade científica e, seus mecanismos de ação vêm sendo investigados experimentalmente. Os estudos indicam que a mistura pode exercer seus efeitos de forma competitiva com patógenos, alterando o ambiente intestinal, interagindo e modulando a resposta inflamatória e imunológica (Morais & Jacob, 2006).

Abid et al., (2013) testou a aplicação de simbiótico (3,5 g kg⁻¹ de probiótico e 7,5 g kg⁻¹ de prebiótico) na dieta do Salmão do Atlântico e suas respostas sobre as comunidades microbianas intestinais e imunidade intestinal. Os resultados obtidos por estes autores indicaram ação protetora na microbiota intestinal sobre células da mucosa, melhora da morfologia e da resposta inata sem afetar negativamente o crescimento e a utilização dos alimentos da dieta.

Para a tilápia, Hassaan, Soltan e Ghonemy (2014) ao avaliarem o efeito do simbiótico *Bacillus licheniformis* e extrato de levedura, para animais de 6 g aproximadamente, encontraram como melhor resultado a inclusão de 0,48 x 10⁶ Unidade Formadora de Colônia (UFC) de *B. licheniformis* e 1% de extrato, apresentando melhor utilização dos alimentos na dieta.

Além dos aditivos pre, pro e simbióticos, os derivados de plantas estão demonstrando eficiência para substituir os antibióticos sem diminuir a produtividade ou afetar o desempenho animal. De acordo com Catalan et al. (2012), a tendência atual é a produção de alimentos seguros, proporcionando conforto aos animais e evitando a utilização de produtos químicos.

3.6. Aditivos Fitogênicos

Os aditivos fitogênicos também são conhecidos como fitobióticos ou nutracêuticos (Windisch et al., 2007), em sua maioria, são compostos de plantas medicinais populares (Tabela 1). Esses aditivos possuem diversos compostos biologicamente ativos, que podem ser classificados em quatro subclasses, com relação à derivação biológica, formulação, descrição química e pureza: 1) extratos vegetais (partes inteiras ou processadas das plantas, como as folhas, a raiz, as cascas; 2) óleos essenciais (extratos hidro destilados de compostos voláteis de plantas); 3) resinas (extrato baseado em solventes não aquosos ou extração direta) e 4)

produtos naturais (produtos derivados de plantas). Estes estão relacionados a mecanismos de defesa dos vegetais, dessa forma, é utilizado para acelerar a recuperação de feridas intestinais, melhorar a atividade dos mecanismos de defesa, e resistência a doenças nos animais. (Kamel, 2000; Pearce e Jin, 2010; Putra et al., 2013; Santos et al., 2009).

Tabela 1: Extratos vegetais comuns e suas propriedades ativas.

Espécie Vegetal	Parte utilizada	Substância ativa	Benefícios conhecidos
Anis	Semente	Anethol	Estimulante da digestão e galactopoiético.
Aipo	Semente folha	Phtalides	Estimulante do apetite e digestão.
Alho	Bulbo	Alicina	Estimulante da digestão, antisséptico.
Alecrim	Folha	Cineol	Estimulante da digestão, antisséptico, antioxidante.
Canela	Casca	Cinamaldeido	Estimulante do apetite e digestão, e antisséptico.
Cravo	Semente	Eugenol	Estimulante do apetite e digestão, e antisséptico.
Cardamomo	Semente	Cineol	Estimulante do apetite e digestão.
Coentro	Semente folha	Linalol	Estimulante da digestão.
Cominho	Semente	Cuminaldeido	Digestivo, carminativo, galactopoiético.
Feno grego	Semente	Trigonellina	Estimulante do apetite.
Gengibre	Raiz	Cingerol	Estimulante gástrico.
Hortelã	Folha	Mentol	Estimulante do apetite e digestão, antisséptico.
Louro	Folha	Cineol	Estimulante do apetite e digestão, e antisséptico.
Mostarda	Semente	Allyl isothyocianato	Estimulante da digestão.
Noz moscada	Semente	Sabinina	Estimulante da digestão e antidiarreico.
Pimenta Preta	Fruto	Piperina	Estimulante da digestão
Pimenta vermelha	Fruto	Capsaicina	Antidiarréico, anti-inflamatório, estimulante, tônico.
Rábano picante	Raiz	Allyl isothyocianato	Estimulante do apetite.
Tomilho	Planta inteira	Thymol	Estimulante da digestão, antisséptico, antioxidante.

Adaptado de Santos et al. (2009).

Outros aditivos fitogênicos com poder medicinal elevado, porém menos conhecidos, vêm sendo estudados na produção de peixes como promotores de crescimento ou imunostimulantes (Santos et al., 2009), tais como: *Cynodon dactylon* (Oskoi et al., 2012); *Satureja khuzestanica* (Khansari et al., 2012); *Sauropus androgynus* (Putra et al., 2013); *Lippia alba* (Saccol et al., 2013; Soares e Tavares-dias, 2013); *Scutellaria baicalensis* (Harikrishnan et al., 2011); *Azadirachta indica*, *Ocimum sanctum* e *Curcuma longa* (Harikrishnan et al., 2010); *Macleaya microcarpa* (Wang et al., 2010); *Astragalus*, *angelica*, *hawthorn*, *Licorice root* e *honeysuckle* (Tang et al., 2014); *Macleaya cordata* (Yao et al., 2010); *Sanguinaria canadensis* (Blank et al., 2010); entre outros.

De acordo com Reverter et al. (2014) a quantidade de trabalhos realizados com algum produto de origem natural (Plantas, algas e produtos comerciais) no período de 1996 a 2014 passou de quase zero para mais de 100 artigos, sendo intensificada a produção em meados dos anos 2000.

3.7.Efeito Imunostimulante

Um dos efeitos mais conhecidos das plantas e seus derivados é a atuação sobre o sistema imunológico dos animais, melhorando a sobrevivência dos peixes mesmo nas situações estressantes que o sistema de criação impõe. Roitt et al. (1998) explicam que o sistema imune é dividido em duas partes que se completam, o inato (não específico) e o adquirido (específico). O sistema imune inato é o primeiro sistema de defesa do corpo, composto tanto por barreiras físicas, muco e pele, quanto por componentes celulares e moleculares (macrófagos, células *killer* e fatores solúveis de imunidade, como lisozima, proteínas do complemento, peptídeos antimicrobianos, entre outros). Já o sistema adquirido é composto por macrófagos e células dendríticas (agem como células antígenas), apresentando antígeno aos linfócitos T. Sendo assim, uma substância imunostimulante aumenta o poder de resposta imune (específica e não específica) tornando os animais mais resistentes às ações negativas do meio. Esta hipótese corrobora com Chakraborty e Hancz (2011), os quais afirmaram que os compostos fitogênicos têm grande potencial para elaboração de produtos ou formulações para uso imunostimulante e antiparasitário na criação de peixes.

Sendo assim, Harikrishnan et al. (2010) encontraram efeitos positivos no restabelecimento dos parâmetros hematológicos em goldfish com a suplementação de 400 mg kg⁻¹ de um extrato de ervas (*A. indica*, *O. sanctum* e *C. longa*). Para o *Oplegnatus fasciatus*,

Harikrishnan et al. (2011) encontraram resultados que minimizam eficazmente a mortalidade e restauraram os parâmetros hematológicos, melhorando a imunidade inata, quando os peixes foram alimentados com dietas suplementadas com 1% de um extrato de *S. baicalensis*. Della Rosa et al. (2012) encontraram resultados positivos sobre a recuperação de lesões pós desova e espermiação de reprodutores de pacu, alimentados com 2 g kg⁻¹ de um aditivo orgânico (Flavoxin®) na dieta.

Harikrishnan et al. (2012) analisando parâmetros hematológicos como: eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, linfócitos e monócitos, observaram que essas variáveis apresentaram valores superiores para os peixes “linguados *Paralichthys olivaceus*” alimentados com dietas contendo aditivos fitogênicos em comparação com os animais da dieta controle.

Para tilápia, Ahmad e Abdel-Tawwab (2011) encontraram efeitos positivos com a adição de 12,5 g kg⁻¹ de farinha de sementes de cominho sobre os parâmetros de crescimento e de composição química, não obtendo diferenças na umidade e proteína, somente nas cinzas e lipídeos. Tang et al. (2014) também encontraram resultados positivos no aumento da imunidade e resistência a doenças em tilápias alimentadas com uma mistura de ervas chinesas (*Astragalus*, *Angelica*, *Hawthorn*, *Licorice root* e *Honeysuckle*) e submetidas a infecção por *Aeromonas hydrophila*. Ardó et al. (2008) encontraram resultados positivos para tilápias alimentadas com 1% de extrato de ervas medicinais (*Astragalus membranaceus* e *Lonicera japonica*) nas respostas imunes e resistência a infecção por *Aeromonas hydrophila*. Shalaby et al. (2006) ao analisarem um aditivo fitogênico a base de *Allium sativum*, no crescimento, parâmetros fisiológicos e sobrevivência de tilápias do Nilo, encontraram resultados positivos com 3% de inclusão na dieta para uso como antibiótico na prevenção de doenças e para maior tolerância ao estresse. Já Santos et al. (2013) não encontraram melhorias no desempenho produtivo para tilápias alimentadas com 0; 0,5; 1,0; e 1,5 % de resíduo de própolis vermelha.

3.8.Efeito sobre a integridade gastrointestinal e como promotores de crescimento

Diversos estudos estão relacionando a inclusão de fitogênicos na dieta com o desempenho positivo no crescimento dos peixes. Assim, Punitha et al. (2008), em estudo com garoupa (*Epinephelus lanceolatus*) alimentada com dietas suplementadas com uma mistura de extratos de ervas (*Cynodon dactylon*), (*Piper longum*), (*Phyllanthus niruri*), (*Tridax procumbens*) e (*Zingiber officinalis*), observaram um aumento de 41% do peso dos peixes, em

comparação com a dieta controle. Trabalhando com o linguado (*Paralichthys olivaceus*), JI et al. (2007), observaram que uma mistura de ervas medicinais (*Crataegi fructus*, *Artemisia capillaries* e *Cnidium officinale*) adicionadas na proporção de 0,3; 0,5; e 1% na dieta resultou em um aumento significativo no ganho em peso, comparado com os resultados obtidos com a dieta controle. Já os pesquisadores Shiozaki et al. (2004), avaliaram o efeito do extrato de Stevia (*Stevia rebaudiana*) adicionado em uma dieta com histamina, durante quatro semanas, sobre a saúde da mucosa gástrica de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*. Esses autores verificaram que a administração de histamina na dieta resultou em anormalidades gástricas como descamação do epitélio e atrofia da mucosa, porém houve uma ação protetora da mucosa nos animais alimentados com extrato de stevia. A stevia é popularmente explorada para obtenção de adoçantes artificiais, pois não possui efeitos colaterais em humanos e possui ação diurética, cardiotônica e tônica para o sistema vascular.

Devido à importância da tilápia no cenário aquícola mundial, trabalhos envolvendo aditivos fitogênicos na melhora do desempenho dos animais, são cada vez mais recorrentes. De acordo com Ahmad and Abdel-Tawwab (2011), a utilização de 12 g kg⁻¹ de farinha das sementes de cominho na dieta de tilápias (3,6 ± 0,3g) apresentou uma melhora nos parâmetros de crescimento dos animais. Shalaby et al. (2006) trabalhando com a suplementação de 3% de alho na dieta de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), observaram um aumento na taxa de crescimento específico e no peso final dos animais. Já para Jegede (2012), o alho contribuiu de forma significativa na digestibilidade aparente da proteína para tilápias ao nível de 20 g kg⁻¹ de inclusão na dieta. Esta resposta corrobora com Chakraborty et al. (2014) e Santos et al. (2009), os quais afirmam que a melhora na saúde gastrointestinal pode ser um indicador da melhor utilização dos nutrientes da dieta, e isto, em associação com a melhora no status imunológico pode sugerir um melhor desempenho produtivo dos peixes quando alimentados com extratos vegetal e herbal como aditivos nas rações.

3.9. Alcalóides

O que desperta o interesse dos pesquisadores não são apenas os vegetais propriamente dito e sim suas substâncias ativas, que as fazem medicinais (Cechinel Filho e Yunes, 1998), tais como os flavonóides, taninos, óleos essenciais, alcalóides, entre outros (Cechinel Filho and Yunes, 1998; Chakraborty and Hancz, 2011; Della Rosa et al., 2012; Gobbo-Neto and Lopes, 2007; Juskiewicz et al., 2011; Vieira et al., 2008). Os alcalóides representam um dos

maiores e mais interessantes grupos de metabólicos secundários das plantas com potencial de promover o crescimento, melhorar o consumo de ração, atuar como imunoestimulante, anti estresse, e ainda promover ação antimicrobiana em peixes (Chakraborty and Hancz, 2011; Faddeeva and Beliaeva, 1997).

Geralmente os alcalóides estão relacionados aos sistemas de defesa das plantas, atuando contra insetos e a proliferação de microrganismos, tais como fungos e bactérias (Marcucci, 1999). Em vários estudos é possível verificar o aumento desses metabólicos secundários quando a planta sofre algum tipo de lesão, pois são produzidos no intuito de afastar as pragas que estão causando a lesão e mantê-la viva. Cocaína, heroína, nicotina, morfina, sanguinarina são alcalóides encontrados em plantas (Blank et al., 2010; Faddeeva and Beliaeva, 1997; Gobbo-Neto and Lopes, 2007; Vieira et al., 2008). Os quatro primeiros são conhecidos mundialmente por ações danosas à saúde humana e a sanguinarina, objeto de estudo desse trabalho.

A danificação artificial de folhas de *Catharanthus roseus*, por exemplo, apresentou aumento de mais ou menos 100% dos alcalóides ajmalicina, 48 horas após a indução (Vázquez-Flota et al., 2004). De acordo com Baldwin et al. (1997) também foi observado um aumento na síntese *de novo* de nicotina nas raízes de *Nicotiana sylvestris* e, posteriormente, encontrou-se distribuída por toda a planta quando esta foi submetida a ferimentos artificiais.

3.10. Sangrovit

O Sangrovit® é um produto comercial obtido a partir da planta *Sanguinarina canadenses*. Esse aditivo é composto por 1,36% de Alcalóides quaternários (sanguinarina), Benzofenantridina e Protopina (ABP). Foi desenvolvido pelo Engenheiro Agrícola Klaus Neufeld como uma alternativa aos antimicrobianos utilizados como promotores de crescimento. O produto possui funções anti-inflamatórias e imunoestimulantes (Facchini, 2001) e ações contra células cancerígenas (Ahmad et al., 2000; Faddeeva and Beliaeva, 1997).

Na literatura existem trabalhos com a suplementação de sangrovit® ou sanguinarina em dietas para suínos melhorando as funções anti-inflamatórias e os estímulos imunes (Blank et al., 2010; Gudev et al., 2004; Muller - Siegwandt et al., 2006). Para os frangos também são destacados resultados positivos para o funcionamento gastrointestinal, no metabolismo e redução da atividade bacteriana com doses que variam de 15 a 50 ppm. (Juskiewicz et al., 2013, 2011; Vieira et al., 2008; Zdunczyk et al., 2010).

Na aquicultura já foram realizados testes com algumas espécies de peixes, utilizando

esse aditivo para obter ganhos no processo de produção, como mostra a Tabela 2. Entretanto, pesquisas que envolvam processos de digestibilidade, crescimento e melhoria da saúde são importantes para encontrar doses e aplicações corretas desses aditivos em diferentes fases de desenvolvimento dos peixes.

Tabela 2: Sangrovit® e seus compostos ativos na alimentação de peixes.

Espécie	Produto	Dosagem	Resultados	Autor
Robalo	Sangrovit®	10 g kg ⁻¹	Promotor de crescimento	Korkut <i>et al.</i> (2012)
Carpa	Sanguinarine	0,9 mg L ⁻¹	Antiparasita	Yao <i>et al.</i> (2010)
Tilápia	Sangrovit®	75 e 100 mg kg ⁻¹	Promotor de crescimento Promotor de crescimento;	Rawling <i>et al.</i> (2009)
Tilápia	Hydroyeast®	10 e 15 g kg ⁻¹	Utilização dos alimentos, Melhoria na composição da carcaça.	Mehrim <i>et al.</i> (2012)

3.11. Referências bibliográficas

- Abid, a., Davies, S.J., Waines, P., Emery, M., Castex, M., Gioacchini, G., Carnevali, O., Bickerdike, R., Romero, J., Merrifield, D.L., 2013. Dietary synbiotic application modulates Atlantic salmon (*Salmo salar*) intestinal microbial communities and intestinal immunity. *Fish Shellfish Immunol.* 35, 1948–1956. doi:10.1016/j.fsi.2013.09.039
- ACEB, A.C.E.E.B.-, 2014. Anuário brasileiro da pesca e aquicultura. Sebrae 136.
- Ahmad, M.H., Abdel-Tawwab, M., 2011. The use of caraway seed meal as a feed additive in fish diets: Growth performance, feed utilization, and whole-body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture* 314, 110–114. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.01.030

- Ahmad, N., Gupta, S., Husain, M.M., Heiskanen, K.M., Mukhtar, H., 2000. Differential Antiproliferative and Apoptotic Response of Sanguinarine for Cancer Cells versus Normal Cells Differential Antiproliferative and Apoptotic Response of Sanguinarine for Cancer Cells versus Normal Cells 1. Clin. Cancer Res. 6, 1524–1528.
- Akrami, R., Nasri-Tajan, M., Jahedi, A., Jahedi, M., Razeghi Mansour, M., Jafarpour, S.A., 2015. Effects of dietary synbiotic on growth, survival, lactobacillus bacterial count, blood indices and immunity of beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. Aquac. Nutr. 21, 952–959. doi:10.1111/anu.12219
- Albuquerque, D.M., Marengoni, N.G., Boscolo, W.R., Ribeiro, R.P., Mahl, I., Moura, M.C., 2013. Probióticos em dietas para tilápia do Nilo durante a reversão sexual. Ciência Rural 43, 1503–1508. doi:10.1590/S0103-84782013000800026
- Almeida, F.L.A., Carvalho, R.F., Pinhal, D., Padovani, C.R., Martins, C., Dal Pai-Silva, M., 2008. Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. Micron 39, 1306–1311. doi:10.1016/j.micron.2008.02.011
- Alves Filho, F.M., Santos, L.D., Silva, L.C.R., Bombardelli, R.A., Meurer, F., 2011. Alga marrom (*Ascophyllum nodosum*) para alevinos de tilápia do Nilo. Rev. Bras. Saúde Produção Anim. 12, 1095–1102.
- AOAC, (Association of Official Analytical Chemists), 1995. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International, 16th ed, Association of Official Analytical Chemists. Arlington, USA.

- Araujo, J.A. De, Silva, J.H.V. Da, Amâncio, A.L.D.L., Lima, M.R. De, Lima, C.B., 2007. Uso de aditivos na alimentação de aves. *Acta Vet. Brasília* 1, 69–77.
- Ardó, L., Yin, G., Xu, P., Váradi, L., Szigeti, G., Jeney, Z., Jeney, G., 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 275, 26–33. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.12.022
- Baldwin, I.T., Zhang, Z.P., Diab, N., Ohnmeiss, T.E., McCloud, E.S., Lynds, G.Y., Schmelz, E. a., 1997. Quantification, correlations and manipulations of wound-induced changes in jasmonic acid and nicotine in *Nicotiana sylvestris*. *Planta* 201, 397–404. doi:10.1007/s004250050082
- Barton, B. a., Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annu. Rev. Fish Dis.* 1, 3–26. doi:10.1016/0959-8030(91)90019-G
- Blank, R., Müller-Sieghwardt, B., Wolfram, S., 2010. Sanguinarine does not influence availability or metabolism of tryptophan in pigs. *Livest. Sci.* 134, 24–26. doi:10.1016/j.livsci.2010.06.086
- Bock, C.L., Pezzato, L.E., Cantelmo, O.A., Barros, M.M., 2007. Fitase em rações para tilápia-do-nilo na fase de crescimento. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 1455–1461. doi:10.1590/S1516-35982007000700001
- Bolívar Ramírez, N., Seiffert, W.Q., Vieira, F.D.N., Mouriño, J.L.P., Jesus, G.F.A., Ferreira, G.S., Andreatta, E.R., 2013. Dieta suplementada com prebiótico, probiótico e simbiótico no cultivo de camarões marinhos. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 48, 913–919. doi:10.1590/S0100-204X2013000800015

- Bomfim, M.A.D., 2013. Estratégias Nutricionais para Redução das Excreções de Nitrogênio e Fósforo nos Sistemas de Produção de Peixes no Nordeste: Sustentabilidade Ambiental e Aumento da Produtividade. *Rev. cient. Pro. Anim.* 15, 122–140.
- Boscolo, W.R., Feiden, A., Maluf, M.L.F., Veit, J.C., 2009. Peixe na merenda escolar: Educar e formar novos consumidores, GFM Gráfic. ed, *Journal of Chemical Information and Modeling*. Toledo - PR.
- Boscolo, W.R., Hayashi, C., Meurer, F., Feiden, A., Wolff, L., 2004. Desempenho e características de carcaça de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L .) alimentadas com rações contendo diferentes níveis de gordura. *Acta Sci. Anim. Sci.* 26, 443–447.
- Boscolo, W.R., Hayashi, C., Soares, C.M., Massamitu, W., Meurer, F., 2001. Desempenho e Características de Carcaça de Machos Revertidos de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Linhagens Tailandesa e Comum , nas Fases Inicial e de Crescimento. *Rev. Bras. Zootec.* 30, 1391–1396.
- Boyd, C.E., 1990. *Water quality in ponds for aquaculture*, 2nd ed. Birmingham Publishing, London.
- Bremer Neto, H., Graner, C.A.F., Pezzato, L.E., Padovani, C.R., 2005. Determinação de rotina do crômio em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5-difenilcarbazida. *Ciência Rural* 35, 691–697. doi:10.1590/S0103-84782005000300033
- Bricknell, I., Dalmo, R.A., 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish Shellfish Immunol.* 19, 457–472. doi:10.1016/j.fsi.2005.03.008

- Brito, J.M. De, Ferreira, A.H.C., Santana Junior, H.A., Araripe, M. de N.B. de A., Lopes, J.B., Duarte, A.R., Cardoso, E.D.S., Rodrigues, V.L., 2014. Probióticos, Prebióticos e Simbióticos na Alimentação de Não- Ruminantes. *Rev. Eletrônica Nutr.* 11, 3070–3084.
- Bureau, D.P., Harris, A.M., Cho, C.Y., 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 180, 345–358. doi:10.1016/S0044-8486(99)00210-0
- Campagnolo, R., Freccia, A., Bergmann, R.R., Meurer, F., Bombardelli, R.A., 2013. Óleos essenciais na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo Essential. *Rev. Bras. Saúde Produção Anim.* 14, 565–573.
- Cantelmo, O., Pezzato, L., Barros, M.M. De, Pezzato, A.C., 2002. Características físicas de dietas para peixes confeccionadas com diferentes aglutinantes. *Acta Sci.* 24, 949–955.
- Cantelmo, O.A., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Ribeiro, M.A.R., 1999. Influência de diferentes aglutinantes na digestibilidade aparente da matéria seca e da proteína , no pacu (*Piaractus mesopotamicus*) arraçoado com rações elaboradas com ou sem vapor. *Acta Sci.* 21, 277–282.
- Carvalho, J.V. de, Lira, A.D. de, Costa, D.S.P., Moreira, E.L.T., Pinto, L.F.B., Abreu, R.D., Albinati, R.C.B., 2011. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do -Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. *Rev. Bras. Saúde Produção Anim.* 12, 176–187.
- Catalan, A.A.S., Gopinger, E., Lopes, D.C.N., Gonçalves, F.M., Roll, A.A.P., Xavier, E.G., Avila, V.S., Roll, V.F.B., 2012. Aditivos fitogênicos na nutrição animal : *Panax ginseng* Phytogenic additives in animal nutrition : *Panax ginseng*. *Rev. Port. Ciências Veterinárias* 107, 15–21.

- Cavalheiro, A.C.M., Castro, M.L.S., Einhardt, M.D.S., Pouey, J.L.O.F., Piedras, S.N., Xavier, E.G., 2014. Microingredientes utilizados em alimentação de peixes em cativeiro – Revisão Use of microingredients in farmed fish feeding – a Review 109, 11–20.
- Cechinel Filho, V., Yunes, R. a., 1998. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quim. Nova* 21, 99–105. doi:10.1590/S0100-40421998000100015
- Chakraborty, S.B., Hancz, C., 2011. Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. *Rev. Aquac.* 3, 103–119. doi:10.1111/j.1753-5131.2011.01048.x
- Chakraborty, S.B., Horn, P., Hancz, C., 2014. Application of phytochemicals as growth-promoters and endocrine modulators in fish culture. *Rev. Aquac.* 6, 1–19. doi:10.1111/raq.12021
- Chaturvedi, M.M., Kumar, A., Darnay, B.G., Chainy, G.B.N., Agarwal, S., Aggarwal, B.B., 1997. Sanguinarine (Pseudochelerythrine) Is a Potent Inhibitor of NF- B Activation , I B γ Phosphorylation , and Degradation *. *J. Biol. Chem.* 272, 30129 –30134.
- Cornélio, F.H.G., Cargnin-Ferreira, E., Borba, M.R. de, Mouriño, J.L.P., Fernandes, V.A.G., Fracalossi, D.M., 2013. Crescimento, digestibilidade e resistência à infecção por patógeno em tilápia-do-nilo alimentada com probióticos. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 48, 863–870. doi:10.1590/S0100-204X2013000800008
- Correa Negrete, J.C., Garrido Correa, A. a., Prieto Guevara, M.J., Atencio García, V.J., Pardo Carrasco, S.C., 2009. Caracterización de células sanguíneas y parámetros hematológicos en blanquillo *Sorubim cuspicaudus*. *Zootec. Trop.* 27, 393–405.

- Costa, L.F., 2004. Leveduras na nutrição animal. Rev. Eletrônica Nutr. 1, 01–06.
- Couto, A., Kortner, T.M., Penn, M., Bakke, A.M., Krogdahl, Å., Oliva-Teles, A., 2015. Dietary saponins and phytosterols do not affect growth, intestinal morphology and immune response of on-growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquac. Nutr. 21, 970–982. doi:10.1111/anu.12220
- Cupp, A.R., Hartleb, C.F., Fredricks, K.T., Gaikowski, M.P., 2016. Effectiveness of eugenol sedation to reduce the metabolic rates of cool and warm water fish at high loading densities. Aquac. Res. 47, 234–242. doi:10.1111/are.12485
- Cyrino, J.E.P., De Almeida Bicudo, Á.J., Sado, R.Y., Borghesi, R., Dairiki, J.K., 2010. A piscicultura e o ambiente - o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. Rev. Bras. Zootec. 39, 68–87. doi:10.1590/S1516-35982010001300009
- Cyrus, M.D., Bolton, J.J., Scholtz, R., Macey, B.M., 2015. The advantages of Ulva (Chlorophyta) as an additive in sea urchin formulated feeds: effects on palatability, consumption and digestibility. Aquac. Nutr. 21, 578–591. doi:10.1111/anu.12182
- Della Rosa, P., Hernández, D.R., Roux, J.P., Santinón, J.J., Sánchez, S., 2012. Aditivo orgánico en raciones para pacú (*Piaractus mesopotamicus*) en período reproductivo . Efecto sobre la recuperación de lesiones. Sitio Argentino Prod. Anim. 23, 81–85.
- Deriggi, G.F., Antonio, L., Aoki, K., Moraes, G., 2006. Stress responses to handling and handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment and assessment of eugenol and eugenol as an alternative anesthetic and anesthetic. Acta Sci. 28, 269–274.

- Dias, D.D.C., Paiva, F. De, Furlaneto, B., Marques, L., Tachibana, L., Romagosa, E., Ranzani-paiva, M.J.T., 2012. Probiotic in feeding of juvenile matrinxã (*Brycon amazonicus*): economic viability. *Acta Sci.* 34, 239–243. doi:10.4025/actascianimsci.v34i3.13257
- Dotta, G., Mouriño, J.L.P., Jatobá, A., Burgos Morán, R.E., Pilati, C., Martins, M.L., 2011. Acute inflammatory response in Nile tilapia fed probiotic *Lactobacillus plantarum* in the diet. *Acta Sci. Biol. Sci.* 33, 239–246. doi:10.4025/actascibiolsoci.v33i3.8011
- Duarte, A.R., Ferreira, A.H.C., Lopes, J.B., Araripe, M. de N.B. de A., Brito, J.M. De, Silva, A.L., Barbosa júnior, M.A., Barros, B.B.G., 2014. Utilização de probióticos na avicultura. *Rev. Eletrônica Nutr.* 11, 3033–3044.
- Facchini, P.J., 2001. Alkaloid Biosynthesis in Plants: Biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52, 29–66. doi:10.1146/annurev.arplant.52.1.29
- Faddeeva, M.D., Beliaeva, T.N., 1997. Sanguinarine and ellipticine cytotoxic alkaloids isolated from well-known antitumor plants. Intracellular targets of their action. *Tsitologiya* 39, 181–208.
- FAO, F. and A.O., 2014. The state of world fisheries and aquaculture. Food Agric. Organization United Nations 2014, 223. doi:92-5-105177-1
- Furuya, W.M., 2010. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias, 1st ed. GFM, Toledo - PR.

- Garcia, F., Abimorad, E.G., Schalch, S.H.C., Onaka, E.M., Fonseca, F.S., 2009. Desempenho produtivo de tilápias alimentadas com suplemento alimentar à base de algas. *Bioikos*, Campinas 23, 83–89.
- Gharib Naseri, K., Rahimi, S., Khaki, P., 2012. Comparison of the effects of probiotic, organic acid and medicinal plant on campylobacter jejuni challenged broiler chickens. *J. Agric. Sci. Technol.* 14, 1485–1496.
- Gobbo-Neto, L., Lopes, N.P., 2007. Plantas Medicinais: Fatores De Influência No Conteúdo De Metabólitos Secundários. *Quim. Nov.* 30, 374–381.
- Gomes, I.G.R.F., Chaves, F.H., Barros, R.N.A., Moreira, R.L., Teixeira, E.G., Moreira, A.G., Farias, W.R.L.F., 2012. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias Dietary supplementation with *Spirulina platensis* increases growth and color of red tilapia ♀. *Rev. Colomb. Ciencias Pecu.* 25, 462–471.
- Goulart, F.R., Speroni, C.S., Lovatto, N.D.M., Loureiro, B.B., Corrêia, V., Radünz Neto, J., Silva, L.P. da, 2013. Atividade de enzimas digestivas e parâmetros de crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com farelo de linhaça in natura e demucilada. *Semin. Ciências Agrárias* 34, 3069. doi:10.5433/1679-0359.2013v34n6p3069
- Gudev, D., Popova-Ralcheva, S., Moneva, P., 2004. Effect of supplemental Sangrovit on some biochemical indices and leukocytes phagocytic activity in growing pigs. *Arch. Zootec* 7, 19–26.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 28, 354–361. doi:10.1016/j.fsi.2009.11.013

- Harikrishnan, R., Kim, J.-S., Kim, M.-C., Dharaneedharan, S., Kim, D.-H., Hong, S.-H., Song, C.-Y., Balasundaram, C., Heo, M.-S., 2012. Effect of dietary supplementation with *Suaeda maritima* on blood physiology, innate immune response, and disease resistance in olive flounder against *Miamiensis avidus*. *Exp. Parasitol.* 131, 195–203. doi:10.1016/j.exppara.2012.03.024
- Harikrishnan, R., Kim, M.C., Kim, J.S., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2011. Protective effect of herbal and probiotics enriched diet on haematological and immunity status of *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) against *Edwardsiella tarda*. *Fish Shellfish Immunol.* 30, 886–893. doi:10.1016/j.fsi.2011.01.013
- Hassaan, M.S., Soltan, M. a., Ghonemy, M.M.R., 2014. Effect of synbiotics between *Bacillus licheniformis* and yeast extract on growth, hematological and biochemical indices of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Egypt. J. Aquat. Res.* 40, 199–208. doi:10.1016/j.ejar.2014.04.001
- Hildsorf, A.W.S., 1995. Genética e cultivo de tilápias vermelhas, uma revisão. *Bol. do Inst. Pesca* 22, 73–84.
- Hisano, H., Narváez-solarte, W.V., Maria, M., Edivaldo, L., 2007a. Desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-nilo alimentados com levedura e derivados. *Medicina (B. Aires)*. 1035–1042.
- Hisano, H., Silva, M.D.P., Barros, M.M., Pezzato, L.E., 2007b. Levedura íntegra e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. *Acta Sci. Biol. Sci.* 28, 311–318. doi:10.4025/actascibiolsci.v28i4.161

- Honorato, C.A., Almeida, L.C., Moraes, G., 2013. Processamento de dieta – seus efeitos no aproveitamento de carboidrato para peixes Cláudia Aparecida Honorato 1 , Lucina Cristina de Almeida 2 & Gilberto Moraes 2 1. Rev. Eletrônica Nutr. 10, 2700–2715.
- Hoseinifar, S.H., Sharifian, M., Vesaghi, M.J., Khalili, M., Esteban, M.Á., 2014. The effects of dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiota and morphology and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. Fish Shellfish Immunol. 39, 231–236. doi:10.1016/j.fsi.2014.05.009
- IBAMA, 2015. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis [WWW Document]. URL <http://www.ibama.gov.br> (accessed 11.9.15).
- Iwashita, M.K.P., 2012. Probióticos na alimentação de tilápia do Nilo : desempenho produtivo , hematologia e imunologia. Universidade Estadual Paulista - UNESP.
- Jankowski, J., Zdun'czyk, Z., Juśkiewicz, J., Kozłowski, K., Lecewicz, A., Jeroch, H., 2009. Gastrointestinal tract and metabolic response of broilers to diets with the *Macleaya cordata* alkaloid extract. Arch. für Geflügelkd. 73, 95–101.
- Jegade, T., 2012. Effect of garlic (*Allium sativum*) on growth, nutrient utilization, resistance and survival of *Tilapia zillii* (Gervais 1852) Fingerlings. J. Agric. Sci. 4. doi:<http://dx.doi.org/10.5539/jas.v4n2p269>
- Ji, S.-C., Jeong, G.-S., Im, G.-S., Lee, S.-W., Yoo, J.-H., Takii, K., 2007. Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder. Fish. Sci. 73, 70–76. doi:10.1111/j.1444-2906.2007.01303.x

- Juskiewicz, J., Gruzauskas, R., Zdunczyk, Z., Semaskaite, A., Jankowski, J., Totilas, Z., Jarule, V., Sasyte, V., Zdunczyk, P., Raceviciute-Stupeliene, A., Svirnickas, G., 2011. Effects of dietary addition of *Macleaya cordata* alkaloid extract on growth performance, caecal indices and breast meat fatty acids profile in male broilers. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl). 95, 171–8. doi:10.1111/j.1439-0396.2010.01037.x
- Juskiewicz, J., Zdunczyk, Z., Gružauskas, R., Daukšiene, A., Raceviciute-Stupeliene, A., Totilas, Ž., 2013. Comparative effects of dietary phytobiotic (*macleaya cordata* alkaloid extract) and probiotic (*pediococcus acidilactici* ma 18/5 m) preparations as single supplements or in combination on fermentative processes in the broiler chickens caeca. Vet. ir Zootech. 62, 50–55.
- Kamel, C., 2000. A novel look at a classic approach of plant extracts The focus on herbs and spices in modern animal feeding is too often forgotten. Since the prohibition of most of the anti-microbial growth promoters, plant extracts have gained interest in alternative fe. Feed Mix 8, 19–23.
- Khansari, A., Yavari, V., Alishahi, M., Mousavi, S.M., Ghorbanpoor, M., Bastami, K.D., Azizi, S., 2012. Effects of *Oliviera decumbens* and *Satureja khuzestanica* extract on some immunological and haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Comp. Clin. Path. 22, 339–342. doi:10.1007/s00580-012-1412-y
- Korkut, A.Y., Kop, A., Döngelhof, M., 2012. Effect of Sangrovit® on the Growth and Performance of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758). Feed Bus. Worldw. 52–55.
- Koumans, J.T.M., Akster, H.A., 1995. Myogenic Cells in Development and Growth of Fish. Science (80-.). 110A, 3–20. doi:10.1016/0300-9629(94)00150-R

- Lee, J.-S., Damte, D., Lee, S.-J., Hossain, M.-A., Belew, S., Kim, J.-Y., Rhee, M.-H., Kim, J.-C., Park, S.-C., 2015. Evaluation and characterization of a novel probiotic *Lactobacillus pentosus* PL11 isolated from Japanese eel (*Anguilla japonica*) for its use in aquaculture. *Aquac. Nutr.* 21, 444–456. doi:10.1111/anu.12176
- Lewandowski, C.M., 2014. Utilização De Subprodutos de Frutas na Alimentação Animal. *Rev. Eletrônica Nutr.* 11, 3430–3443.
- Lima, M.R. de, 2013. Valor nutritivo e níveis de inclusão de ingredientes proteicos utilizados em dietas para tilápia do Nilo. Misleni Ricarte de Lima 1 1. *Rev. Eletrônica Nutr.* 10, 2546–2582.
- Ma, R., Hou, H., Mai, K., Bharadwaj, A.S., Ji, F., Zhang, W., 2015. Comparative study on the effects of chelated or inorganic manganese in diets containing tricalcium phosphate and phytate on the growth performance and physiological responses of turbot *Scophthalmus maximus*. *Aquac. Nutr.* 21, 780–787. doi:10.1111/anu.12206
- Marcucci, M., 1999. Composição química e atividade biológica. *Rev. da Univ. Fr.*
- Marengoni, N.G., Wild, M.B., Celso, A., Junior, G., Maria, M., Schneider, P., Moura, M.C. De, 2014. Bioacumulação de metais pesados em tilápia do nilo e retenção no solo e sedimento dos viveiros com adição de probióticos na dieta. *Biosci. J.* 30, 1158–1167.
- Mehrim, A.I., Hassan, M.E.M., 2012. EFFECT OF HYDROYEAST AQUACULTURE ® AS GROWTH PROMOTER FOR ADULT NILE TILAPIA *Oreochromis niloticus*. *J. Anim. poultry Prod.* 3, 305–317.

- Mello, H. De, Moraes, J.R.E., Niza, I.G., Moraes, F.R. De, Ozório, R.O. a, Shimada, M.T., Filho Engracia, J.R.E.R., Claudiano, G.S., 2013. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de tilápia-do-nilo. *Pesqui. Vet. Bras.* 33, 724–730. doi:10.1590/S0100-736X2013000600006
- Melo, W. de O., Silva, E.C., Pereira, V.R., 2010. USO DE ADITIVOS NA DIETA DE COELHOS. *Rev. Eletrônica Nutr.* 7, 1382–1390.
- Morais, M.B., Jacob, C.M.A., 2006. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. *J. Pediatr. (Rio. J.)*. 82, 189–197. doi:10.2223/JPED.1559
- Moreira, A.A., Hilsdorf, A.W.S., Da Silva, J.V., De Souza, V.R., 2007. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 42, 521–526. doi:10.1590/S0100-204X2007000400010
- Moro, G. V., Rezende, F.P., Alves, A.L., Hashimoto, D.T., Varela, E.S., Torati, L.S., 2013. Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos, in: Rodrigues, A.P.O., Lima, A.F., Alves, A.L., Rosa, D.K., Tarati, L.S., Santos, V.R. V. (Eds.), *Espécies de Peixe Para Piscicultura*. Embrapa, Brasília, DF, p. 440.
- Mörschbacher, E.F., Marengoni, N.G., Albuquerque, D.M., 2014. Mananoligossacarídeo durante a reversão sexual de tilápia do Nilo. *Biosci. J.* 30, 1168–1176.
- Mouriño, J.L.P., Vieira, F.N., Jatobá, A., Silva, B.C., Pereira, G.V., Jesus, G.F.A., Ushizima, T.T., Seiffert, W.Q., Martins, M.L., 2015. Symbiotic supplementation on the hemato-immunological parameters and survival of the hybrid surubim after challenge with *Aeromonas hydrophila*. *Aquac. Nutr.* doi:10.1111/anu.12390

- MPA, M. da P. e A., 2013. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. Bol. Estat. da pesca e aquicultura 60.
- Muller - Siegwardt, B., Blank, R., Wolfram, S., 2006. Untersuchungen zum Tryptophan-sparenden Effekt von Sangrovit ® beim wachsenden Schwein. TAGUNG SCHWEINE-UND GEFLÜGELERNÄHRUNG 28–30.
- Myung, S.H., Jung, W.-G., Kim, H.S., Kim, Y.E., Cho, S.H., Jwa, M.S., Kim, P.Y., Kim, M.K., Park, M.-W., Kim, B.-H., 2016. Effects of dietary substitution of fishmeal with the combined dry microalgae, *Nannochloropsis oceanica* (NO) biomass residue and casein on growth and body composition of juvenile abalone (*Haliotis discus*). Aquac. Res. 47, 341–348. doi:10.1111/are.12562
- Oliveira, R.C. De, 2009. O panorama da aquicultura no Brasil: A prática com foco na sustentabilidade. Rev. intertox Toxicol. risco Ambient. e Soc. 2, 71–89.
- Oliveira, M.M., Ribeiro, T., Orlando, T.M., de Oliveira, D.G.S., Drumond, M.M., de Freitas, R.T.F., Rosa, P.V., 2014. Effects crude protein levels on female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproductive performance parameters. Anim. Reprod. Sci. 150, 62–69. doi:10.1016/j.anireprosci.2014.08.006
- Oskoi, S.B., Kohyani, A.T., Parseh, A., Salati, A.P., Sadeghi, E., 2012. Effects of dietary administration of *Echinacea purpurea* on growth indices and biochemical and hematological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Fish Physiol. Biochem. 38, 1029–1034. doi:10.1007/s10695-011-9587-8

- Pardo-gamboa, B.S., Quintero-pinto, L.G., Pezzato, L.E., Silva, F.A., Quintero-pardo, A.M.C., 2011. Nutrientes digestíveis da Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) Íntegra e Autolisada para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Integral and Autolyzed Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) digestible nutrients for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Vet. Zootec. 5, 26–38.
- Pearce, M., Jin, G.L.Z., 2010. Aditivos Fitogênicos. Porkworld, Campinas 58, 128–136.
- Punitha, S.M.J., Babu, M.M., Sivaram, V., Shankar, V.S., Dhas, S.A., Mahesh, T.C., Immanuel, G., Citarasu, T., 2008. Immunostimulating influence of herbal biomedicines on nonspecific immunity in Grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection. Aquac. Int. 16, 511–523. doi:10.1007/s10499-007-9162-6
- Putra, A.A., Santoso, U., Lee, M., Nan, F., 2013. Effects of Dietary Katuk Leaf Extract on Growth Performance , Feeding Behavior and Water Quality of Grouper *Epinephelus coioides*. Aceb Int. J. Sci. Technol. 2, 17–25. doi:http://dx.doi.org/10.13170/aijst.2.1.488
- Radhakrishnan, S., Saravana Bhavan, P., Seenivasan, C., Muralisankar, T., Shanthi, R., 2015. Effects of native medicinal herbs (*Alternanthera sessilis* , *Eclipta alba* and *Cissus quadrangularis*) on growth performance, digestive enzymes and biochemical constituents of the monsoon river prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. Aquac. Nutr. 21, 496–506. doi:10.1111/anu.12180
- Rairat, T., Chuchird, N., Limsuwan, C., 2013. Effect os Sangrovit WS on Growth, Survival and Prevention of *Vibrio harveyi* in Rearing of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Kasetsart Univ. Fish. Res. Bull. 37, 19 – 29.

- Rana, K., 1997. Trends in global production, 1984-1995. *FAO Fish. Circ.* 3–6.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. EdUEM, Maringá.
- Rawling, M.D., Merrifield, D.L., Davies, S.J., 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. *Aquaculture* 294, 118–122. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.05.005
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P., 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture* 433, 50–61. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.05.048
- Rodrigues, R., Meurer, F., Boscolo, W.R., 2015. Additives in fish nutrition. *Rev. Colomb. Ciencias Animais* 7, 228–236.
- Roitt, I., Brostoff, J., Male, D., 1998. *Immunology*, 5th ed. London, Mosby.
- Rosenfeld, G., 1947. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudo de diversos fatores. *Mem. Inst. Butantan* 20, 315–328.
- Saccol, E.M.H., Uczay, J., Pês, T.S., Finamor, I.A., Ourique, G.M., Rifel, A.P.K., Schmidt, D., Caron, B.O., Heinzmann, B.M., Llesuy, S.F., Lazzari, R., Baldisseroto, B., Pavanato, M.A., 2013. Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: An analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. *Aquaculture* 416-417, 244–254. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.09.036

- Sado, R.Y., Bicudo, A.J. a, Cyrino, J.E.P., 2014. Growth and intestinal morphology of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) fed dietary prebiotics (mannanooligosaccharides - MOS). *An. Acad. Bras. Cienc.* 86, 1517–24. doi:10.1590/0001-3765201420130088
- Salvador, R., Claudiano, G. da S., Loureiro, B.A., Marcusso, P.F., Eto, S.F., Pilarski, F., Toazza, C.S., Moraes, J.R.E. de, Moraes, F.R. de, 2013. Desempenho e hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com *Saccharomyces cerevisiae* e vacinadas contra *Streptococcus agalactiae*. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 48, 892–898. doi:10.1590/S0100-204X2013000800012
- Santos, E.L., Ludke, M. do C.M.M., Lima, M.R. De, 2009. Extrato vegetais como aditivos em rações para peixes. *Rev. Eletrônica Nutr.* 6, 789–800.
- Santos, E.L., Silva, F.C.B., Pontes, E.C., Lira, R.C., Cavalcanti, M.C.A., 2013. Resíduo do processamento do extrato de própolis vermelha em ração comercial para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Comun. Sci.* 4, 179–185.
- Santos, T.N.S., Castro, V., Soares, A.L., Oba, A., Shimokomaki, M., 2008. Prebióticos, probióticos e simbióticos na nutrição dos animais. *Rev. Eletrônica Nutr.* 5, 573–576.
- Schwarz, K.K., Furuya, W.M., Natali, M.R.M., Michelato, M., Gualdezi, M.C., 2010. Mananoligossacarídeo em dietas para juvenis de tilápias do Nilo. *Acta Sci. - Anim. Sci.* 32, 197–203. doi:10.4025/actascianimsci.v32i2.7724
- Schwarz, K.K., Furuya, W.M., Natali, R.M., Gaudezi, M.C., Lima, P.A.G., 2011. Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 2634–2640.

- Shalaby, a. ., Khattab, Y. a., Abdel Rahman, a. M., 2006. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival os Nike tikapia (*Oreochromis niloticus*). J Venom. Anim. Toxins incl. TRop. Dis 12, 172–201. doi:10.1590/S1678-91992006000200003
- Shiozaki, K., Nakano, T., Yamaguchi, T., Sato, M., Sato, N., 2004. The protective effect of stevia extract on the gastric mucosa of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) fed dietary histamine. Aquac. Res. 35, 1421–1428. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01164.x
- Signor, A., Pezzato, L.E., Padilha, P.D.M., Roberto, C., Barros, M.M., 2010. Revista Brasileira de Zootecnia Growth performance and metabolic response of Nile tilapia fed rations supplemented with autolized yeast and zinc Desempenho produtivo e respostas metabólicas de tilápias-do-nilo alimentadas com rações suplementadas com leve. Rev. Bras. Zootec. 2560–2568.
- Silva, T.S.D.C., Furuya, W.M., Santos, L.D. Dos, Fujii, K.M., Michelato, M., Iwamoto, B.S., 2008. Fitase líquida em dieta extrusada para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Acta Sci. Anim. Sci. 29, 449–455. doi:10.4025/actascianimsci.v29i4.1016
- Sirirustananun, N., Chen, J.-C., Lin, Y.-C., Yeh, S.-T., Liou, C.-H., Chen, L.-L., Sim, S.S., Chiew, S.L., 2011. Dietary administration of a *Gracilaria tenuistipitata* extract enhances the immune response and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Fish Shellfish Immunol. 31, 848–55. doi:10.1016/j.fsi.2011.07.025

- Sivagnanavelmurugan, M., Karthik Ramnath, G., Jude Thaddaeus, B., Palavesam, A., Immanuel, G., 2015. Effect of *Sargassum wightii* fucoïdan on growth and disease resistance to *Vibrio parahaemolyticus* in *Penaeus monodon* post-larvae. *Aquac. Nutr.* 21, 960–969. doi:10.1111/anu.12217
- Soares, B.V., Tavares-dias, M., 2013. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. *Biota Amaz.* 3, 109–123.
- Souto, C.N., Oliveira, M.D., Cunha, J.M.S., Pádua, D.M.C., Oliveira, S.L., 2015. Aspectos nutritivos relacionados a saúde de peixes. *Rev. Eletrônica Nutr.* 12, 4030–4044.
- STATSOFT, I., 2005. STATISTICA (data analysis software system).
- Takishita, S.S., Lanna, E.A.T., Donzele, J.L., Bomfim, M.A.D., Quadros, M., de Sousa, M.P., 2009. Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. *Rev. Bras. Zootec.* 38, 2099–2105.
- Tang, J., Cai, J., Liu, R., Wang, J., Lu, Y., Wu, Z., Jian, J., 2014. Immunostimulatory effects of artificial feed supplemented with a Chinese herbal mixture on *Oreochromis niloticus* against *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 39, 401–6. doi:10.1016/j.fsi.2014.05.028
- Telli, G.S., Ranzani-Paiva, M.J.T., Dias, D.D.C., Sussel, F.R., Ishikawa, C.M., Tachibana, L., 2014. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. *Fish Shellfish Immunol.* 39, 305–311. doi:10.1016/j.fsi.2014.05.025
- Vázquez-Flota, F., Carrilo-Pech, M., Minero-Garcia, Y., Miranda-Ham, M.L., 2004. *Plant Physiol. Biochem.* 42, 623.

- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W., 2000. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 655–671. doi:10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000
- Vieira, S., Berres, J., Reis, R., Oyarzabal, O., Coneglian, J., Freitas, D., Peña, J., Torres, C., 2008. Studies with sanguinarine like alkaloids as feed additive in broiler diets. *Rev. Bras. Ciência Avícola* 10, 67–71. doi:10.1590/S1516-635X2008000100010
- Vosyliënė, M.Z., 1999. The Effect of Heavy Metals on Haematological Indices of Fish (Survey). *Acta Zool. Litu.* 9, 76–82. doi:10.1080/13921657.1999.10512290
- Wang, G.X., Zhou, Z., Jiang, D.X., Han, J., Wang, J.F., Zhao, L.W., Li, J., 2010. In vivo anthelmintic activity of five alkaloids from *Macleaya microcarpa* (Maxim) Fedde against *Dactylogyrus intermedius* in *Carassius auratus*. *Vet. Parasitol.* 171, 305–313. doi:10.1016/j.vetpar.2010.03.032
- Wild, M.B., Marengoni, N.G., Vivian, M.M.P.S., Tsutsumi, C.Y., Moura, M.C. De, 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. *Semin. Ciências Agrárias* 35, 477. doi:10.5433/1679-0359.2014v35n1p477
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., Kroismayr, A., 2007. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *J. Anim. Sci.* 86, 140–148. doi:10.2527/jas.2007-0459
- World Bank, 2013. Fish to 2030: Prospects for fisheries and aquaculture. Washington, D.C. 3, 102. doi:83177-GLB

- Yao, J.-Y., Shen, J.-Y., Li, X.-L., Xu, Y., Hao, G.-J., Pan, X.-Y., Wang, G.-X., Yin, W.-L., 2010. Effect of sanguinarine from the leaves of *Macleaya cordata* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Parasitol. Res.* 107, 1035–42. doi:10.1007/s00436-010-1966-z
- Yildiz, M., Köse, İ., Issa, G., Kahraman, T., 2015. Effect of different plant oils on growth performance, fatty acid composition and flesh quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Res.* 46, 2885–2896. doi:10.1111/are.12441
- Zanardi, M.F., 2011. Fontes de lipídios na reprodução e larvicultura de tilápias do Nilo. Universidade Estadual Paulista.
- Zdarilova, A., Vrublova, E., Vostalova, J., Klejdus, B., Stejskal, D., Proskova, J., Kosina, P., Svobodova, A., Vecera, R., Hrbac, J., Cernochova, D., Vicar, J., Ulrichova, J., Simanek, V., 2008. Natural feed additive of *Macleaya cordata*: Safety assessment in rats a 90-day feeding experiment. *Food Chem. Toxicol.* 46, 3721–3726. doi:10.1016/j.fct.2008.09.054
- Zdunczyk, Z., Gruzauskas, R., Juskiewicz, J., Semaskaite, A., Jankowski, J., Godycka-Klos, I., Jarule, V., Miezeliene, A., Alencikiene, G., 2010. Growth performance, gastrointestinal tract responses, and meat characteristics of broiler chickens fed a diet containing the natural alkaloid sanguinarine from *Macleaya cordata*. *J. Appl. Poult. Res.* 19, 393–400. doi:10.3382/japr.2009-00114
- Zhang, C.-N., Li, X.-F., Xu, W.-N., Zhang, D.-D., Lu, K.-L., Wang, L.-N., Tian, H.-Y., Liu, W.-B., 2015. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and gut histology of triangular bream (*Megalobrama terminalis*). *Aquac. Nutr.* 21, 755–766. doi:10.1111/anu.12200

Zhang, X., Peng, L., Wang, Y., Liang, Q., Deng, B., Li, W., Fu, L., Yu, D., Shen, W., Wang, Z., 2014. Effect of dietary supplementation of probiotic on performance and intestinal microflora of Chinese soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*). *Aquac. Nutr.* 20, 667–674. doi:10.1111/anu.12128

CAPITULO 1: Sangrovit® em dietas para tilápias do Nilo.¹

Resumo: Dois estudos foram realizados para avaliar a inclusão de Sangrovit®, um produto contendo 1,36% de Alcaloides quaternários (sanguinarina), na dieta de tilápias do Nilo. O primeiro objetivou avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da energia e nutrientes das rações, utilizando-se 180 peixes ($40 \pm 5,7$ g) alimentados com três dietas (controle, 100 e 200 mg kg⁻¹ de sangrovit®). O segundo experimento objetivou avaliar os parâmetros zootécnicos, sanguíneos, composição centesimal da carcaça e histologia do músculo e intestino. Foram utilizados 240 peixes ($1,07 \pm 0,07$ g) alimentados com cinco níveis de sangrovit® (controle, 50, 100, 150 e 200 mg kg⁻¹) e seis repetições. Os resultados do estudo de digestibilidade mostraram melhores CDAs da proteína, lipídeos, matéria mineral e energia das dietas contendo 100 mg kg⁻¹ do aditivo. No segundo experimento, os parâmetros zootécnicos, sanguíneos, centesimais e histológicos não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos alimentados com Sangrovit® em relação a dieta controle. Conclui-se que 100 mg kg⁻¹ do aditivo Sangrovit® melhora o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína, lipídeos, energia e matéria mineral das dietas para tilápia.

Palavras-chave: Sangrovit®. Nutrição. Digestibilidade. Desempenho zootécnico.

1. Introdução

Atualmente a produção aquícola mundial, de acordo com a FAO (2014), é de aproximadamente 158 milhões de toneladas, sendo 21,8 milhões para uso não alimentar e 136,2 milhões para uso alimentar. Deste montante, a aquicultura teve participação de 66,6 milhões de toneladas e, quando comparada com a produção dos anos 2000 evidencia um aumento próximo aos 100%. Segundo o World Bank (2013), as projeções para produção aquícola mundial em 2030 são de 93,61 milhões de toneladas, sendo esta a atividade

¹ Artigo redigido de acordo com as normas do periódico científico *Aquaculture Research*..

responsável por 61,68% de toda produção pesqueira do mundo.

Dentre as espécies mais produzidas na aquicultura mundial, a tilápia ocupa a segunda posição, e o primeiro lugar no cenário brasileiro (MPA, 2013). Seu sucesso na atividade se deve ao rápido crescimento, rusticidade ao manejo, resistência a doenças, suporta altas densidades de estocagem, baixos teores de oxigênio dissolvido, plasticidade quanto ao uso de proteínas de origem vegetal e animal, dentre outras características (Moreira et al., 2007; Takishita et al., 2009).

Aliado com o potencial das espécies a nutrição é ferramenta importante para o crescimento da piscicultura, sendo recorrentes as pesquisas com inclusão de aditivos em dietas para peixes (Rodrigues et al., 2015). Aditivos como os prebióticos (Hoseinifar et al. 2014; Cyrus et al. 2015; Sivagnanavelmurugan et al. 2015) , probióticos (Lee et al., 2015; Wild et al., 2014; Zhang et al., 2014), simbióticos (Akrami et al., 2015; Mouriño et al., 2015; Zhang et al., 2015) e os fitogênicos (Couto et al., 2015; Cupp et al., 2016; Radhakrishnan et al., 2015), que também são conhecidos como fitobióticos ou nutracêuticos (Windisch et al., 2007), vêm sendo estudados por seu potencial na substituição dos antibióticos, promovendo ações de estímulo a digestão, ao sistema imune, ação antibacteriana e consequente ganho em peso (Chakraborty e Hancz 2011; Reverter et al. 2014; Chakraborty et al. 2014).

O uso de aditivos fitogênicos vem crescendo principalmente pela ação medicinal apresentada por compostos secundários presentes nas plantas e ervas (Couto et al., 2015), tais como os flavonoides, taninos, óleos essenciais, alcaloides, entre outros (Juskiewicz et al., 2013). Esses alcaloides podem estar relacionados ao sistema de defesa das plantas contra proliferações de microrganismos (fungos e bactérias) (Marcucci, 1999).

O Sangrovit® (Phytobiotics GmbH, Ettville, Germany) é um aditivo fitogênico, que possui em sua composição 1,36% de alcaloides quaternários (sanguinarina), benzofenantridina e protopina (ABP). Possui função anti-inflamatória e imunoestimulante

(Facchini, 2001), sua adição em rações para peixe pode variar de 1 a 200 mg kg⁻¹ (Mehrim and Hassan, 2012; Rawling et al., 2009), apresentando-se como alternativa interessante como promotor de crescimento para nutrição animal.

Dentre os compostos ativos desse aditivo, a sanguinarina vem sendo relacionada a melhora nos parâmetros zootécnicos, na utilização dos alimentos, na saúde gastrointestinal e na higidez de animais como peixes, suínos e aves quando presente nas dietas fornecidas (Blank et al., 2010; Juskiewicz et al., 2013; Rawling et al., 2009; Yao et al., 2010; Zdunczyk et al., 2010).

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a inclusão do aditivo fitogênico Sangrovit® na dieta de tilápias (*O. niloticus*) e suas respostas sobre a digestibilidade dos nutrientes e energia, parâmetros zootécnicos, parâmetros sanguíneos, composição da carcaça e histologia muscular e intestinal.

2. Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos em Manejo na Aquicultura (GEMAQ), da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Câmpus Toledo. Foram conduzidos dois experimentos, em etapas distintas, durante período de fevereiro a julho de 2015.

2.1. Dietas experimentais

Cinco dietas experimentais (Tabela 1) foram confeccionadas de modo a conter níveis crescentes de Sangrovit® (0; 50; 100; 150 e 200 mg kg⁻¹). A dieta controle, insenta de suplementação e formulada de modo a atender as exigências nutricionais da tilápia (Furuya, 2010), serviu de base para elaboração das dietas com os diferentes níveis de suplementação do aditivo fitogênico.

(Tabela 1)

Para confecção das dietas, os ingredientes foram triturados em moinho do tipo martelo (Vieira, MCS 280, Tatuí-SP, Brasil), com peneira de 0,3 milímetros de diâmetro e, em seguida, a mistura foi submetida ao processo de extrusão (Extec, Ex-Micro, Ribeirão Preto-SP, Brasil), obtendo-se péletes com aproximadamente dois milímetros de diâmetro e posteriormente secas em estufa a 55°C por 12 horas.

2.2.Digestibilidade

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da proteína bruta, energia bruta, lipídeos e matéria mineral das dietas experimentais, foram determinados empregando-se o método indireto.

Cento e oitenta peixes ($40,0 \pm 5,7$ g) foram aleatoriamente distribuídos, na densidade de um peixe para cada nove litros, em 12 tanques cônicos adaptados para coleta de fezes por sedimentação.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com três tratamentos e quatro repetições. Foram avaliadas três dietas (0, 100 e 200 mg kg⁻¹ de Sangrovit®) com aproximadamente 38% de proteína bruta e 3000 kcal de energia digestível, utilizando o óxido de cromo (0,1%) como marcador inerte. Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (08:00, 11:00, 14:00 e 17:00 horas) até a saciedade aparente. Após duas horas da última alimentação foi realizada a limpeza dos tanques e correta adequação dos coletores, sendo a coleta das fezes realizada 12 horas depois. O experimento teve duração de 30 dias, com período adaptativo de sete dias somente com a alimentação da dieta controle para todos os tratamentos.

O material fecal coletado foi devidamente armazenado (-20°C) e, previamente às análises químicas, procedeu-se a secagem em estufa a 55°C por 72 horas. Em seguida, as amostras foram moídas e acondicionadas em freezers até sua utilização. Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDAs) dos nutrientes e da energia bruta foram calculados por meio de fórmula descrita por Bureau et al. (1999).

2.3. Desempenho e hematologia

Dentro de um tanque de alvenaria (25 m^3), foram distribuídas aleatoriamente em 30 tanques de 138 litros 240 tilápias ($1,07 \pm 0,07\text{g}$), em sistema de recirculação, equipados com filtro mecânico, biológico e lâmpada ultravioleta para limpeza da água. O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso com cinco tratamentos (0; 50; 100; 150 e 200 mg kg^{-1} de aditivo) e seis repetições, sendo cada unidade experimental composta por oito peixes.

Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (8h00, 11h00, 14h00 e 17h00), até a saciedade aparente. A temperatura ($23,3 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$), oxigênio ($6,3 \pm 0,3\text{ mg L}^{-1}$), condutividade ($98,4 \pm 0,8\text{ }\mu\text{S cm}^{-1}$) e pH ($7,5 \pm 0,7$), foram monitorados e mantiveram-se na faixa considerada ideal para a espécie (Boyd, 1990).

Após 60 dias de experimento, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas para o esvaziamento do trato gastrointestinal e, posteriormente os animais foram insensibilizados com eugenol, na dose de $80,0\text{ mg L}^{-1}$ (Deriggi et al., 2006), para a realização das medidas de peso e comprimento dos animais e avaliação do desempenho produtivo. Posteriormente os animais foram eutanasiados com 300 mg L^{-1} de eugenol para análises centesimais e de histologia do intestino e músculo. As variáveis de desempenho zootécnicos analisadas foram: peso final médio (PF), comprimento final médio (CF), sobrevivência (SO), ganho em peso (GP), ganho em peso diário (GPD), fator de condição (FC), gordura visceral (GV), uniformidade do lote (UNI), taxa de crescimento específico (TCE), índice hepatossomático

(IHS), taxa de eficiência proteica (TEP), conversão alimentar aparente (CAA) e eficiência de retenção de proteína (RP).

Para coleta do sangue, foram capturados três peixes de cada unidade experimental, aleatoriamente, para a retirada de uma alíquota de 0,5 mL, por punção caudal, com auxílio de uma seringa heparinizada. Essas amostras foram destinadas para as análises do leucograma. Foram realizadas extensões sanguíneas em lâminas de vidro com extremidades foscas, secas ao ar e coradas pelo método de Rosenfeld (1947).

A leitura foi realizada em microscópio óptico com aumento de 100x, utilizando óleo de imersão. A contagem total de leucócitos e trombócitos foram realizadas pelo método indireto: Leucócitos totais ($\text{cells } \mu\text{L}^{-1}$) = $[(\text{número de leucócitos contados na extensão} \times \text{número de eritrócitos em câmara de Neubauer})/2000]$; e trombócitos totais ($\text{cells } \mu\text{L}^{-1}$) = $[(\text{número de trombócitos contados na extensão} \times \text{número de eritrócitos em câmara de Neubauer})/2000]$ (Ranzani-Paiva et al., 2013).

A contagem diferencial dos leucócitos consistiu em determinar a proporção existente entre as variedades de leucócitos: linfócitos, neutrófilos e monócitos. As avaliações foram realizadas em microscópio de luz comum, com objetiva de imersão de 100 vezes foram contados 100 leucócitos.

2.4. Análises químicas

A composição centesimal da carcaça, rações e fezes foi obtida de acordo com o preconizado pela AOAC (1995). Foram determinados os teores de matéria seca, matéria mineral, proteína e lipídeos. A matéria seca foi obtida pela diferença entre o peso inicial e final da amostra submetida à estufa a 105°C por 8 horas, sendo que para o caso das carcaças, estas foram submetidas a uma pré-secagem a 55°C por 72 h. A proteína foi obtida por digestão com ácido sulfúrico, destilação e titulação pelo método de Kjeldhal (Model MA-036,

Piracicaba-SP, Brasil), enquanto que o extrato etéreo (lipídeos) foi conduzido por meio de extrator com solvente (éter de petróleo) (extrator de Soxhlet com éter como solvente; Modle TE-0,44, Piracicaba-SP, Brasil). A matéria mineral foi obtida por calcinação em mufla a 550°C por oito horas (Model 2000B, Belo Horizonte-MG, Brasil).

A energia bruta das rações e fezes foi determinada em bomba calorimétrica de oxigênio automática (Model C2000 basic, IKA Works, USA) e a abertura das amostras para quantificação do óxido de cromo foi realizada por meio de solução ácida, para posterior leitura dos valores em espectrofotômetro (Model 600 plus, FEMTO, São Paulo – SP, Brasil), de acordo com a metodologia descrita por Bremer Neto et al. (2005).

2.5. Análises histológicas

Para a análise da histologia intestinal foram recolhidas porções de aproximadamente três centímetros de comprimento do intestino médio de três peixes por unidade experimental. As amostras foram colocadas em placa de isopor, abertas longitudinalmente, lavadas com solução salina, fixadas em solução de “Bouin” por seis horas, e posteriormente preservada em álcool 70% até a realização das análises. As amostras passaram pelo processo de inclusão em parafina e posteriormente foram realizados os cortes dos blocos por meio de um micrótomo. Cortes transversais (5 μ m) foram obtidos e submetidos à coloração hematoxilina-eosina. Avaliando a altura das vilosidades intestinais, e a espessura do epitélio das vilosidades.

Para a histologia do músculo, três peixes de cada unidade experimental foram capturados e retirados uma amostra de músculo branco do lado esquerdo do peixe, acima da linha lateral. Essas amostras foram acondicionadas em formol tamponado 10% por 24 horas, e posteriormente preservadas em álcool 70% até o momento da realização das análises. As amostras passaram pelo processo de inclusão de parafina e posteriormente foram realizados os cortes dos blocos com auxílio de um micrótomo. Cortes transversais (5 μ m) foram obtidos em

micrótomo e submetidos à coloração hematoxilina-eosina. Para a realização da histologia da fibra muscular, em um sistema de análise de imagens foi determinado o menor diâmetro de 200 fibras musculares, por animal, que foram agrupadas em classes de diâmetros ($< 20 \mu\text{m}$, $20\text{-}50 \mu\text{m}$ e $> 50 \mu\text{m}$) para avaliar a contribuição da hiperplasia e hipertrofia para o crescimento muscular de acordo com a metodologia descrita por Almeida et al. (2008).

2.6. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando observado diferenças significativas ($p < 0,05$), aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey, com 5% de significância. Para determinação dos níveis seguros, aplicou-se análise de regressão. As análises foram realizadas por meio do programa computacional statistica 7.1 (STATSOFT, 2005).

3. Resultados

3.1. Digestibilidade

Os resultados obtidos para os coeficientes de digestibilidade aparente (CDAs) da proteína, lipídeos, matéria mineral e energia estão expressos na Tabela 2. A inclusão de 100 g kg^{-1} de Sangrovit[®] proporcionou melhoras significativas ($P < 0,05$) sobre o aproveitamento da energia e nutrientes da dieta pelos juvenis de tilápias do Nilo, em comparação à dieta controle. Observaram-se aumentos correspondentes a 3,83%; 5,86% e 6,90% para proteína, lipídeos e energia, respectivamente. Para matéria mineral a inclusão do aditivo melhorou o CDA em 70,46%. Contudo, verificou-se que a inclusão de 200 mg kg^{-1} piora o CDA da proteína, sendo o aproveitamento para esta dieta semelhante ao verificado para o tratamento controle. Com

relação aos lipídeos, energia e matéria mineral, os CDAs não foram diferentes quando comparados com a dieta com 100 mg kg⁻¹ e controle.

(Tabela 2)

3.2.Desempenho

A inclusão de diferentes níveis do produto fitogênico em dietas para alevinos de tilápia, não determinou diferenças significativas entre tratamentos quando aplicada análises de variância e de regressão ($P>0,05$) sobre os parâmetros zootécnicos (Tabela 3).

(Tabela 3)

O número de leucócitos e trombócitos totais, bem como o diferencial de leucócitos, também não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, como demonstrado na Tabela 4.

(Tabela 4)

Os valores de umidade, proteína, gordura e cinzas da carcaça dos peixes não foram influenciados ($P>0,05$) pelos diferentes níveis de inclusão do aditivo na dieta (Tabela 5). Isso sugere que, as quantidades fornecidas de Sangrovit® não foram capazes de promover mudanças na composição centesimal das tilápias.

(Tabela 5)

Os resultados obtidos para altura das vilosidades e espessura dos epitélios estão expressos na Tabela 6. A inclusão de 50 e 100 g kg⁻¹ de Sangrovit[®] proporcionou melhoras significativas (P<0,05) sobre o aumento das vilosidades de juvenis de tilápias do Nilo, em comparação à dieta controle. Para espessura dos epitélios os melhores resultados foram para as inclusões de 50, 100 e 200 g kg⁻¹ do aditivo nas dietas.

(Tabela 6)

Os resultados da análise histológica do músculo dos peixes não apresentaram diferenças quando submetida a dietas contendo diferentes níveis do aditivo fitogênico (Tabela 7). Dessa forma, é possível afirmar que neste caso os níveis do aditivo não promoveram aumento das fibras musculares em três classes de diâmetros (< 20 µm, entre 20 e 50 µm e >50 µm), das tilápias sujeitas à avaliação.

(Tabela 7)

4. Discussão

4.1. Digestibilidade

Os resultados apresentados tem papel relevante na aquicultura, pois a maior parte dos custos de produção é oriunda das rações comerciais. E maximizar a absorção dos nutrientes pelos peixes é um dos pontos mais importantes na formulação de dietas equilibradas e de baixo custo, além de reduzir as excreções de elementos eutrofizantes nos corpos de água (Oliveira et al., 2014).

De acordo com Rawling et al. (2009) o alcaloide sanguinarina é o composto de maior importância, do ponto de vista benéfico para os peixes, presente no aditivo Sangrovit®. Dessa forma, a melhora no coeficiente da digestibilidade dos nutrientes e da energia apresentado pelos animais do presente estudo, pode estar relacionado à ação antiparasitária, antibacteriana e antiestresse, oriundas desse alcaloide (Yao et al., 2010). Tais ações melhoram a saúde gastrointestinal e o referido benefício pode ser um indicador da melhor utilização dos nutrientes da dieta (Chakraborty et al., 2014; Santos et al., 2009).

O alcaloide sanguinarina, quando suplementado em dietas, não apresenta total absorção pelo intestino, favorecendo sua passagem até as partes finais (Zdarilova et al., 2008), influenciando as funções gastrointestinais, incluindo a arquitetura intestinal, processos de fermentação e de motilidade em partes inferiores do intestino (Jankowski et al., 2009), corroborando com resultados antimicrobianos, anti-inflamatórios e imuno-moduladores encontrados pelo mesmo autor para frangos alimentados com inclusão da sanguinarina na dieta.

Ahmad et al. (2000) afirma que as funções bactericidas, antioxidante e as propriedades anti-inflamatórias apresentadas pelo alcaloide sanguinarina podem auxiliar no processo de recuperação de lesões no trato gastrointestinal. Para Chaturvedi et al. (1997) esse alcaloide é um potencial inibidor da ativação do fator de transcrição celular NF – κ B 3, que desempenha um papel fundamental na regulação do crescimento celular, regulação do ciclo celular e apoptose, auxiliando no processo de recuperação de lesões. Consequentemente, auxilia na digestibilidade dos alimentos pela manutenção da saúde do intestino, frente as lesões causadas rotineiramente pelos alimentos ingeridos.

Outros aditivos vegetais também mostram mesma tendência positiva na digestibilidade dos alimentos, segundo Jegede (2012) a adição de 20 g kg⁻¹ de extrato de “alho *Allium sativum*” melhorou significativamente a digestibilidade da proteína para tilápias do Nilo. Para

Radhakrishnan et al. (2015) a melhor utilização dos alimentos por parte dos peixes pode ter relação com o estímulo de secreção de enzimas digestivas, características de algumas plantas ou ervas.

4.2.Desempenho

Segundo Rawling et al. (2009), o aditivo Sangrovit® quando utilizados em doses de 25 a 100 mg kg⁻¹ em dietas para tilápias (6.8 ± 0.2 g) por um período de 60 dias, proporcionam um evidente ganho em peso e melhoras no crescimento, diferindo dos resultados obtidos no presente trabalho, possivelmente pela diferente fase dos peixes em estudo.

Os benefícios do uso do Sangrovit® para o crescimento de animais já foram observadas para carpa (Yao et al., 2010), robalo (Korkut et al., 2012), camarão (Rairat et al., 2013), frangos (Juskiewicz et al., 2011; Zdunczyk et al., 2010), e suínos (Blank et al., 2010; Gudev et al., 2004).

De acordo com Chakraborty et al. (2014) a melhora na saúde gastrointestinal pode ser um indicador da melhor utilização dos nutrientes da dieta, e isto, em associação com melhoria no status imunológico pode resultar em melhor desempenho produtivo quando peixes são alimentados com extratos vegetais e herbais como aditivos nas rações.

Campagnolo et al. (2013), ao incluir 0; 5; 10; 15; e 20g kg⁻¹ de um produto comercial a base de óleos essenciais de plantas com alcaloides na dieta de tilápias ($0,36 \pm 0,034$ g), também não encontraram diferenças significativas como promotor de crescimento, sugerindo que outras doses e tempos de administração fossem testadas, pois a fase dos animais e o sistema de criação podem influenciar nos resultados. De acordo com Santos et al. (2013) a adição do resíduo do processamento de própolis vermelha em ração comercial para alevinos de tilápia ($0,11 \pm 0,03$ g) também não determinou diferenças significativas sobre o desempenho dos animais.

Shiozaki et al. (2004) ao alimentar “truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*” com extrato vegetal de “Stevia, *Stevia rebaudiana*”, encontraram indícios de uma ação protetora na mucosa intestinal e consequentemente melhorias no desempenho desses indivíduos.

De uma forma geral os aditivos fitogênicos vêm obtendo sucesso como promotores de crescimento em espécies de peixes, apresentando-se como alternativas em substituição aos produtos sintéticos, como os antibióticos (Catalan et al., 2012). As atividades funcionais desses compostos são dependentes das doses utilizadas, exercendo efeitos fisiológicos em distintas concentrações (Chakraborty et al., 2014).

Para as análises relativas ao leucograma dos animais (número de leucócitos e trombócitos totais e diferenciação de leucócitos), não foram observadas diferenças ($P>0,05$) nos peixes alimentados com diferentes concentrações de Sangrovit®. Esses resultados indicam que os diferentes tratamentos não comprometeram o estado de saúde dos animais, já que os leucócitos e trombócitos participam ativamente do sistema imune e auxiliam na identificação de processos infecciosos e de desequilíbrio homeostático dos peixes (Barton and Iwama, 1991; Vosylienė, 1999). Os leucócitos participam do sistema de defesa do organismo e os trombócitos do processo de coagulação sanguínea (Correa Negrete et al., 2009).

Rawling et al. (2009) descreve como alto os valores observados para os Leucócitos, 33500 a 44500, de tilápias alimentadas com Sangrovit® na dieta, apresentando diferenças significativas em relação aos animais alimentados sem a adição do produto. Para Chakraborty & Hancz (2011), é notável os pontos positivos dos aditivos fitogênicos quanto à melhora de imunidade e dos parâmetros fisiológicos dos peixes, porém, é interessante os estudos que isolem os compostos químicos para o real efeito sobre as pisciculturas.

A composição corporal dos peixes não foi influenciada pelos diferentes níveis de Sangrovit®, corroborando com Yildiz et al. (2015), que não encontraram diferenças significativas nos valores de umidade, proteína e cinzas para inclusão de óleos de plantas na

dieta para “truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*”. Em concordância, Ahmad & Abdel-Tawwab (2011) encontraram apenas diferença significativa para o teor de lipídeos na carcaça de tilápias alimentadas com extrato fitogênico. Shalaby et al. (2006) também não encontraram diferenças na composição centesimal de tilápias entre os tratamentos alimentados com extrato de alho. Estes resultados observados na literatura podem ser explicados pelas ações dos aditivos utilizados, já que em sua maioria não são utilizados com o intuito de promover alteração na composição química dos animais, sendo que estes produtos agem em outras características como na promoção do crescimento e na manutenção da higidez dos animais.

As medidas da altura do vilo e espessura do epitélio foram realizadas devido ao poder anti-inflamatório dos fitogênicos nas vilosidades (Couto et al., 2015), na melhoria da utilização dos alimentos e dos benefícios gastrointestinais (Chakraborty et al., 2014). De acordo com (Mello et al., 2013), o efeito positivo da utilização do aditivo sobre a altura dos vilos e a espessura do epitélio podem ser atribuído à ação inibitória das bactérias prejudiciais à mucosa intestinal, de modo a favorecer sua integridade, digestibilidade, absorção de nutrientes e condicionar melhor equilíbrio orgânico para os peixes.

Ao analisar a altura do vilo e espessura do epitélio de tilápias alimentadas com aditivos na dieta, Carvalho et al. (2011), atribuiu o aumento da altura das vilosidades à melhora da mucosa intestinal dos peixes.

O crescimento muscular pode ser influenciado por diversos fatores, entre eles a nutrição (Koumans and Akster, 1995). Acreditava-se que o efeito promotor de crescimento descrito para este aditivo pudesse influenciar no comportamento muscular, como não houve diferenças no crescimento, consequentemente não houve diferenças nas fibras.

Como o aditivo Sangrovit® tem sido relatado, em pesquisas com suínos, como facilitador da absorção de aminoácidos como o Triptofano, sendo aminoácidos ligados a processos de anabolismo, crescimento muscular, acredita-se no potencial destes produtos no

aumento das fibras musculares nos animais (Blank et al., 2010). Porém, novos níveis de inclusão e diferentes fases dos animais devem ser testadas.

Com base nas informações obtidas no presente estudo, conclui-se que dietas contendo 100 mg kg⁻¹ do aditivo fitogênico Sangrovit® proporcionaram melhores resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente de proteína, lipídeos, energia e matéria mineral. E 50 g kg⁻¹ favoreceu o aumento das vilosidades e da espessura do epitélio intestinal. Porém, com a adição do aditivo fitogênico no presente estudo não foi possível observar diferenças significativas nos parâmetros zootécnicos, hematológicos, centesimais e morfométricos do músculo nos animais testados. Estudos adicionais devem ser conduzidos com maiores tempos de avaliação do aditivo e fases diferentes dos animais.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem a empresa PHYTOBIOTICS FEED ADDITIVES pelo auxílio financeiro disponibilizado. A COPACOL (Cooperativa Agroindustrial Consolata) pelo financiamento dos peixes e ingredientes das formulações.

6. Referências bibliográficas

- Ahmad, M.H., Abdel-Tawwab, M., 2011. The use of caraway seed meal as a feed additive in fish diets: Growth performance, feed utilization, and whole-body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture* 314, 110–114. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.01.030
- Ahmad, N., Gupta, S., Husain, M.M., Heiskanen, K.M., Mukhtar, H., 2000. Differential Antiproliferative and Apoptotic Response of Sanguinarine for Cancer Cells versus Normal Cells Differential Antiproliferative and Apoptotic Response of Sanguinarine for

Cancer Cells versus Normal Cells 1. Clin. Cancer Res. 6, 1524–1528.

Akrami, R., Nasri-Tajan, M., Jahedi, A., Jahedi, M., Razeghi Mansour, M., Jafarpour, S.A., 2015. Effects of dietary synbiotic on growth, survival, lactobacillus bacterial count, blood indices and immunity of beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. Aquac. Nutr. 21, 952–959. doi:10.1111/anu.12219

Almeida, F.L.A., Carvalho, R.F., Pinhal, D., Padovani, C.R., Martins, C., Dal Pai-Silva, M., 2008. Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. Micron 39, 1306–1311. doi:10.1016/j.micron.2008.02.011

AOAC, (Association of Official Analytical Chemists), 1995. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International, 16th ed, Association of Official Analytical Chemists. Arlington, USA.

Barton, B. a., Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annu. Rev. Fish Dis. 1, 3–26. doi:10.1016/0959-8030(91)90019-G

Blank, R., Müller-Siewardt, B., Wolfram, S., 2010. Sanguinarine does not influence availability or metabolism of tryptophan in pigs. Livest. Sci. 134, 24–26. doi:10.1016/j.livsci.2010.06.086

Boyd, C.E., 1990. Water quality in ponds for aquaculture, 2nd ed. Birmingham Publishing, London.

- Bremer Neto, H., Graner, C.A.F., Pezzato, L.E., Padovani, C.R., 2005. Determinação de rotina do crômio em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5-difenilcarbazida. *Ciência Rural* 35, 691–697. doi:10.1590/S0103-84782005000300033
- Bureau, D.P., Harris, A.M., Cho, C.Y., 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 180, 345–358. doi:10.1016/S0044-8486(99)00210-0
- Campagnolo, R., Freccia, A., Bergmann, R.R., Meurer, F., Bombardelli, R.A., 2013. Óleos essenciais na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo Essential. *Rev. Bras. Saúde Produção Anim.* 14, 565–573.
- Carvalho, J.V. de, Lira, A.D. de, Costa, D.S.P., Moreira, E.L.T., Pinto, L.F.B., Abreu, R.D., Albinati, R.C.B., 2011. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do -Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. *Rev. Bras. Saúde Produção Anim.* 12, 176–187.
- Catalan, A.A.S., Gopinger, E., Lopes, D.C.N., Gonçalves, F.M., Roll, A.A.P., Xavier, E.G., Avila, V.S., Roll, V.F.B., 2012. Aditivos fitogênicos na nutrição animal : *Panax ginseng* Phytogenic additives in animal nutrition : *Panax ginseng*. *Rev. Port. Ciências Veterinárias* 107, 15–21.
- Chakraborty, S.B., Hancz, C., 2011. Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. *Rev. Aquac.* 3, 103–119. doi:10.1111/j.1753-5131.2011.01048.x

- Chakraborty, S.B., Horn, P., Hancz, C., 2014. Application of phytochemicals as growth-promoters and endocrine modulators in fish culture. *Rev. Aquac.* 6, 1–19. doi:10.1111/raq.12021
- Chaturvedi, M.M., Kumar, A., Darnay, B.G., Chainy, G.B.N., Agarwal, S., Aggarwal, B.B., 1997. Sanguinarine (Pseudocheleerythrine) Is a Potent Inhibitor of NF- B Activation , I B γ Phosphorylation , and Degradation *. *J. Biol. Chem.* 272, 30129–30134.
- Correa Negrete, J.C., Garrido Correa, A. a., Prieto Guevara, M.J., Atencio García, V.J., Pardo Carrasco, S.C., 2009. Caracterización de células sanguíneas y parámetros hematológicos en blanquillo *Sorubim cuspicaudus*. *Zootec. Trop.* 27, 393–405.
- Couto, A., Kortner, T.M., Penn, M., Bakke, A.M., Krogdahl, Å., Oliva-Teles, A., 2015. Dietary saponins and phytosterols do not affect growth, intestinal morphology and immune response of on-growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquac. Nutr.* 21, 970–982. doi:10.1111/anu.12220
- Cupp, A.R., Hartleb, C.F., Fredricks, K.T., Gaikowski, M.P., 2016. Effectiveness of eugenol sedation to reduce the metabolic rates of cool and warm water fish at high loading densities. *Aquac. Res.* 47, 234–242. doi:10.1111/are.12485
- Cyrus, M.D., Bolton, J.J., Scholtz, R., Macey, B.M., 2015. The advantages of *Ulva* (Chlorophyta) as an additive in sea urchin formulated feeds: effects on palatability, consumption and digestibility. *Aquac. Nutr.* 21, 578–591. doi:10.1111/anu.12182
- Deriggi, G.F., Antonio, L., Aoki, K., Moraes, G., 2006. Stress responses to handling h andling in Nile t ilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment a ssessment of eugenol e ugenol as an alternative anesthetic a nesthetic. *Acta Sci.* 28, 269–274.

- Facchini, P.J., 2001. Alkaloid Biosynthesis in Plants: Biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52, 29–66. doi:10.1146/annurev.arplant.52.1.29
- FAO, F. and A.O., 2014. The state of world fisheries and aquaculture. Food Agric. Organization United Nations 2014, 223. doi:92-5-105177-1
- Furuya, W.M., 2010. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias, 1st ed. GFM, Toledo - PR.
- Gudev, D., Popova-Ralcheva, S., Moneva, P., 2004. Effect of supplemental Sangrovit on some biochemical indices and leukocytes phagocytic activity in growing pigs. *Arch. Zootec* 7, 19–26.
- Hoseinifar, S.H., Sharifian, M., Vesaghi, M.J., Khalili, M., Esteban, M.Á., 2014. The effects of dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiota and morphology and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. *Fish Shellfish Immunol.* 39, 231–236. doi:10.1016/j.fsi.2014.05.009
- Jankowski, J., Zdun'czyk, Z., Juśkiewicz, J., Kozłowski, K., Lecewicz, A., Jeroch, H., 2009. Gastrointestinal tract and metabolic response of broilers to diets with the *Macleaya cordata* alkaloid extract. *Arch. für Geflügelkd.* 73, 95–101.
- Jegade, T., 2012. Effect of garlic (*Allium sativum*) on growth, nutrient utilization, resistance and survival of *Tilapia zillii* (Gervais 1852) Fingerlings. *J. Agric. Sci.* 4. doi:http://dx.doi.org/10.5539/jas.v4n2p269

- Juskiewicz, J., Gruzauskas, R., Zdunczyk, Z., Semaskaite, A., Jankowski, J., Totilas, Z., Jarule, V., Sasyte, V., Zdunczyk, P., Raceviciute-Stupeliene, A., Svirnickas, G., 2011. Effects of dietary addition of *Macleaya cordata* alkaloid extract on growth performance, caecal indices and breast meat fatty acids profile in male broilers. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl). 95, 171–8. doi:10.1111/j.1439-0396.2010.01037.x
- Juskiewicz, J., Zdunczyk, Z., Gružauskas, R., Daukšiene, A., Raceviciute-Stupeliene, A., Totilas, Ž., 2013. Comparative effects of dietary phytobiotic (*macleaya cordata* alkaloid extract) and probiotic (*pediococcus acidilactici* ma 18/5 m) preparations as single supplements or in combination on fermentative processes in the broiler chickens caeca. Vet. ir Zootech. 62, 50–55.
- Korkut, A.Y., Kop, A., Dünghoef, M., 2012. Effect of Sangrovit ® on the Growth and Performance of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L ., 1758). Feed Bus. Worldw. 52–55.
- Koumans, J.T.M., Akster, H.A., 1995. Myogenic Cells in Development and Growth of Fish. Science (80-.). 110A, 3–20. doi:10.1016/0300-9629(94)00150-R
- Lee, J.-S., Damte, D., Lee, S.-J., Hossain, M.-A., Belew, S., Kim, J.-Y., Rhee, M.-H., Kim, J.-C., Park, S.-C., 2015. Evaluation and characterization of a novel probiotic *Lactobacillus pentosus* PL11 isolated from Japanese eel (*Anguilla japonica*) for its use in aquaculture. Aquac. Nutr. 21, 444–456. doi:10.1111/anu.12176
- Marcucci, M., 1999. Composição química e atividade biológica. Rev. da Univ. Fr.
- Mehrim, A.I., Hassan, M.E.M., 2012. EFFECT OF HYDROYEAST AQUACULTURE ® AS GROWTH PROMOTER FOR ADULT NILE TILAPIA *Oreochromis niloticus*. J. Anim. poultry Prod. 3, 305–317.

- Mello, H. De, Moraes, J.R.E., Niza, I.G., Moraes, F.R. De, Ozório, R.O. a, Shimada, M.T., Filho Engracia, J.R.E.R., Claudiano, G.S., 2013. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de tilápia-do-nilo. *Pesqui. Vet. Bras.* 33, 724–730. doi:10.1590/S0100-736X2013000600006
- Moreira, A.A., Hilsdorf, A.W.S., Da Silva, J.V., De Souza, V.R., 2007. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 42, 521–526. doi:10.1590/S0100-204X2007000400010
- Mouriño, J.L.P., Vieira, F.N., Jatobá, A., Silva, B.C., Pereira, G.V., Jesus, G.F.A., Ushizima, T.T., Seiffert, W.Q., Martins, M.L., 2015. Symbiotic supplementation on the hemato-immunological parameters and survival of the hybrid surubim after challenge with *Aeromonas hydrophila*. *Aquac. Nutr.* doi:10.1111/anu.12390
- MPA, M. da P. e A., 2013. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. *Bol. Estat. da pesca e aquicultura* 60.
- Oliveira, M.M., Ribeiro, T., Orlando, T.M., de Oliveira, D.G.S., Drumond, M.M., de Freitas, R.T.F., Rosa, P.V., 2014. Effects crude protein levels on female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproductive performance parameters. *Anim. Reprod. Sci.* 150, 62–69. doi:10.1016/j.anireprosci.2014.08.006
- Radhakrishnan, S., Saravana Bhavan, P., Seenivasan, C., Muralisankar, T., Shanthi, R., 2015. Effects of native medicinal herbs (*Alternanthera sessilis* , *Eclipta alba* and *Cissus quadrangularis*) on growth performance, digestive enzymes and biochemical constituents of the monsoon river prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. *Aquac. Nutr.* 21, 496–506. doi:10.1111/anu.12180

- Rairat, T., Chuchird, N., Limsuwan, C., 2013. Effect os Sangrovit WS on Growth, Survival and Prevention of *Vibrio harveyi* in Rearing of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Kasetsart Univ. Fish. Res. Bull. 37, 19 – 29.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. EdUEM, Maringá.
- Rawling, M.D., Merrifield, D.L., Davies, S.J., 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. Aquaculture 294, 118–122. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.05.005
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P., 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. Aquaculture 433, 50–61. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.05.048
- Rodrigues, R., Meurer, F., Boscolo, W.R., 2015. ADDITIVES IN FISH NUTRITION. Rev. Colomb. Ciencias Animais 7, 228–236.
- Rosenfeld, G., 1947. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudo de diversos fatores. Mem. Inst. Butantan 20, 315–328.
- Santos, E.L., Ludke, M. do C.M.M., Lima, M.R. De, 2009. Extrato vegetais como aditivos em rações para peixes. Rev. Eletrônica Nutr. 6, 789–800.
- Santos, E.L., Silva, F.C.B., Pontes, E.C., Lira, R.C., Cavalcanti, M.C.A., 2013. Resíduo do processamento do extrato de própolis vermelha em ração comercial para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Comun. Sci. 4, 179–185.

- Shalaby, a. ., Khattab, Y. a., Abdel Rahman, a. M., 2006. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival os Nike tikapia (*Oreochromis niloticus*). J Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis 12, 172–201. doi:10.1590/S1678-91992006000200003
- Shiozaki, K., Nakano, T., Yamaguchi, T., Sato, M., Sato, N., 2004. The protective effect of stevia extract on the gastric mucosa of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) fed dietary histamine. Aquac. Res. 35, 1421–1428. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01164.x
- Sivagnanavelmurugan, M., Karthik Ramnath, G., Jude Thaddaeus, B., Palavesam, A., Immanuel, G., 2015. Effect of *Sargassum wightii* fucoidan on growth and disease resistance to *Vibrio parahaemolyticus* in *Penaeus monodon* post-larvae. Aquac. Nutr. 21, 960–969. doi:10.1111/anu.12217
- STATSOFT, I., 2005. STATISTICA (data analysis software system).
- Takishita, S.S., Lanna, E.A.T., Donzele, J.L., Bomfim, M.A.D., Quadros, M., de Sousa, M.P., 2009. Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. Rev. Bras. Zootec. 38, 2099–2105.
- Vosyliënė, M.Z., 1999. The Effect of Heavy Metals on Haematological Indices of Fish (Survey). Acta Zool. Litu. 9, 76–82. doi:10.1080/13921657.1999.10512290
- Wild, M.B., Marengoni, N.G., Vivian, M.M.P.S., Tsutsumi, C.Y., Moura, M.C. De, 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. Semin. Ciências Agrárias 35, 477. doi:10.5433/1679-0359.2014v35n1p477

- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., Kroismayr, A., 2007. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *J. Anim. Sci.* 86, 140–148. doi:10.2527/jas.2007-0459
- World Bank, 2013. Fish to 2030: Prospects for fisheries and aquaculture. Washington, D.C. 3, 102. doi:83177-GLB
- Yao, J.-Y., Shen, J.-Y., Li, X.-L., Xu, Y., Hao, G.-J., Pan, X.-Y., Wang, G.-X., Yin, W.-L., 2010. Effect of sanguinarine from the leaves of *Macleaya cordata* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Parasitol. Res.* 107, 1035–42. doi:10.1007/s00436-010-1966-z
- Yildiz, M., Köse, İ., Issa, G., Kahraman, T., 2015. Effect of different plant oils on growth performance, fatty acid composition and flesh quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Res.* 46, 2885–2896. doi:10.1111/are.12441
- Zdarilova, A., Vrublova, E., Vostalova, J., Klejdus, B., Stejskal, D., Proskova, J., Kosina, P., Svobodova, A., Vecera, R., Hrbac, J., Cernochova, D., Vicar, J., Ulrichova, J., Simanek, V., 2008. Natural feed additive of *Macleaya cordata*: Safety assessment in rats a 90-day feeding experiment. *Food Chem. Toxicol.* 46, 3721–3726. doi:10.1016/j.fct.2008.09.054
- Zdunczyk, Z., Gruzauskas, R., Juskiewicz, J., Semaskaite, A., Jankowski, J., Godycka-Klos, I., Jarule, V., Miezelienė, A., Alencikiene, G., 2010. Growth performance, gastrointestinal tract responses, and meat characteristics of broiler chickens fed a diet containing the natural alkaloid sanguinarine from *Macleaya cordata*. *J. Appl. Poult. Res.* 19, 393–400. doi:10.3382/japr.2009-00114

- Zhang, C.-N., Li, X.-F., Xu, W.-N., Zhang, D.-D., Lu, K.-L., Wang, L.-N., Tian, H.-Y., Liu, W.-B., 2015. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and gut histology of triangular bream (*Megalobrama terminalis*). *Aquac. Nutr.* 21, 755–766. doi:10.1111/anu.12200
- Zhang, X., Peng, L., Wang, Y., Liang, Q., Deng, B., Li, W., Fu, L., Yu, D., Shen, W., Wang, Z., 2014. Effect of dietary supplementation of probiotic on performance and intestinal microflora of Chinese soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*). *Aquac. Nutr.* 20, 667–674. doi:10.1111/anu.12128

Tabela 1: Dietas experimentais com inclusão de Sangrovit®.

Alimentos	Inclusão dos alimentos (g kg ⁻¹)
	Dieta experimental
Milho	314,02
Farinha de vísceras	250,00
Farelo de soja	110,00
Farelo de trigo	105,00
Farinha de penas	67,50
C. Proteico de soja	62,50
F. de carne e ossos	40,50
Óleo de soja	17,80
L-Lisina	14,15
Premix ¹	5,10
L-Treonina	4,70
DL-Metionina	3,50
Sal comum	3,00
Cloreto de Colina	1,50
Betaina	1,00
Antifúngico	1,00
Vitamina C	0,40
Antioxidante	0,23
Sangrovit ²	
Composição calculada (g kg ⁻¹)	
Amido	218,74
Cálcio	16,73
Energia digestível (Kcal)	3012,40
Energia Bruta (Kcal)*	4715,00
Fibra bruta	27,63
Fósforo total	12,23
Gordura*	58,66
Lisina total	28,81
Matéria mineral*	82,41
Metionina total	8,84
Proteína Bruta*	385,68

²Para elaboração das dietas testes foram incluídos níveis crescentes de Sangrovit® (0; 50; 100; 150; e 200 mg kg⁻¹) à dieta experimental.

*Valores analisados. ¹Níveis de garantia por kg do produto - Premix (Nutron F30805CPL): Ácido fólico (min) 997,50 mg; Ácido pantotênico (min) 9975,00 mg; Biotina (min) 159,60 mg; Cobre (min) 2800,00 mg; Etoxiquin (min) 24,78 mg; Ferro (min) 19,62 g; Inositol (min) 10,00 g; Iodo (min) 120,00 mg; Manganês (min) 5200,06 mg; Niacina (min) 19,95 g; Selênio (min) 119,70 mg; Vitamina A (min) 1995000,00 ul; Vitamina B1 (min) 4987,50 mg; Vitamina B12 (min) 5985,00 mg; Vitamina B2 (min) 4987,50 mg; Vitamina C (min) 70,00 g; Vitamina D3 (min) 798000,00 ul; Vitamina E (min) 19950,00 ul; Vitamina K3 (min) 997,50 mg; Zinco (min) 28,00 g.

Tabela 2: Valores de CDA de proteína, lipídeos, energia e matéria mineral, de tilápias alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Sangrovit[®].

Variáveis (%)	Dietas experimentais (mg kg ⁻¹)			
	0	100	200	P
CDA Proteína	78,07±1,40 ^b	81,06±0,62 ^a	78,87±0,90 ^b	0,00
CDA Lipídeos	86,69±3,31 ^b	91,77±0,85 ^a	89,07±2,15 ^{ab}	0,03
CDA Energia	64,52±1,90 ^b	68,97±1,11 ^a	66,47±1,64 ^{ab}	0,01
CDA Matéria Mineral	25,02±3,01 ^b	42,65±4,20 ^a	27,64±10,26 ^{ab}	0,00

Letras distintas seguidas representam diferenças significativas. CDA = coeficiente de digestibilidade aparente.

Tabela 3: Parâmetros zootécnicos de alevinos de tilápia alimentados com dietas contendo níveis crescentes de Sangrovit®.

Variáveis	Níveis (mg kg ⁻¹)					P*
	0	50	100	150	200	
Peso inicial	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99
(g)	±0,07	±0,06	±0,05	±0,07	±0,09	
Peso final	13,10	12,90	13,40	13,70	14,00	0,75
(g)	±1,85	±1,23	±1,82	±1,55	±1,72	
CT final	8,60	8,60	8,70	8,90	8,70	0,65
(cm)	±0,42	±0,30	±0,45	±0,37	±0,33	
GP (g)	12,10	11,80	12,30	12,60	13,00	0,75
	±1,86	±1,23	±1,78	±1,51	±1,71	
CAA	0,90	0,80	0,90	0,90	1,00	0,18
	±0,13	±0,02	±0,11	±0,07	±0,13	
GPD (g	0,20	0,10	0,20	0,20	0,20	0,75
dia ⁻¹)	±0,03	±0,02	±0,02	±0,02	±0,02	
FC	1,50	1,40	1,50	1,50	1,50	0,70
	±0,14	±0,09	±0,12	±0,11	±0,14	
SOB (%)	87,50	95,80	91,60	91,60	83,30	0,31
	±13,69	±6,45	±15,13	±6,45	±6,45	
GV (g)	1,20	1,30	1,30	1,40	1,80	0,61
	±0,44	±0,42	±0,72	±0,96	±0,39	
IHS (%)	3,90	3,90	3,90	4,10	4,20	0,88
	±0,33	±0,41	±0,58	±0,52	±0,46	
UNI (%)	66,90	59,20	71,90	65,70	64,60	0,42
	±16,18	±13,17	±6,00	±7,85	±9,08	
TCE (%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,10	0,85
	±0,08	±0,06	±0,04	±0,04	±0,07	
TEP (%)	1,50	1,70	1,60	1,60	1,50	0,26
	±0,16	±0,04	±0,16	±0,12	±0,16	
RP (%)	28,2	30,5	26,6	29,7	26,8	0,06
	±2,93	±0,68	±2,73	±2,15	±2,73	

Comprimento Total (CT); Ganho em Peso (GP); Conversão Alimentar Aparente (CAA); Ganho em Peso Diário (GPD); Fator de Condição (FC); Sobrevivência (SOB); Gordura Visceral (GV); Índice hepatossomático (IHS); Uniformidade (UNI); Taxa de crescimento específico (TCE); Taxa de eficiência proteica (TEP); Eficiência de retenção proteica (RP).

*Não significativo para análises de variância e de regressão.

Tabela 4: Resultados hematológicos para tilápias alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Sangrovit®.

Variáveis	Níveis (mg kg ⁻¹)					P*
	0	50	100	150	200	
Leucócitos (cells µL ⁻¹)	33243 ± 6015	32115 ± 5474	36005 ± 8526	33797 ± 2969	35245 ± 4572	0,78
Trombócitos (cells µL ⁻¹)	23273 ± 4273	23197 ± 9728	29590 ± 9083	24767 ± 5372	22303 ± 8845	0,51
Linfócitos (%)	89,16 ± 3,06	90,00 ± 1,26	87,66 ± 1,86	89,83 ± 2,22	89,33 ± 1,21	0,32
Neutrófilos (%)	9,16 ± 3,25	9,00 ± 1,26	9,66 ± 2,58	8,00 ± 2,09	9,66 ± 0,81	0,67
Monócitos (%)	1,66 ± 1,03	1,00 ± 0,89	2,66 ± 2,06	2,16 ± 1,60	1,00 ± 1,26	0,21

*Não significativo para análises de variância e de regressão.

Tabela 5: Composição centesimal de alevinos de tilápia alimentados com dietas contendo níveis crescentes de Sangrovit®.

Variáveis (%)	Níveis (mg kg ⁻¹)					P*
	0	50	100	150	200	
Umidade	72,59 ± 0,63	72,74 ± 0,57	73,56 ± 0,53	72,47 ± 0,60	73,21 ± 0,79	0,21
Proteína	17,34 ± 0,64	17,02 ± 0,94	16,18 ± 0,70	17,36 ± 0,62	16,71 ± 1,06	0,35
Gordura	7,23 ± 0,13	7,30 ± 0,32	7,14 ± 0,48	7,23 ± 0,48	7,04 ± 0,61	0,95
Cinzas	3,92 ± 0,2	4,15 ± 0,13	3,76 ± 0,27	3,92 ± 0,21	3,85 ± 0,19	0,07

* Não significativo para análises de variância e de regressão.

Tabela 6: Resultados da histologia intestinal, como medidas da altura do vilo e espessura do epitélio para tilápias alimentadas com níveis crescentes de Sangrovit®.

Variáveis	Níveis (mg kg ⁻¹)					P
	0	50	100	150	200	
Altura do Vilo (µm)	125,72 ±53,20 ^c	188,57 ± 57,05 ^a	182,70 ± 71,64 ^a	150,94 ± 55,22 ^b	157,56 ± 62,18 ^b	0,00
Espessura do Epitélio (µm)	36,00 ± 8,92 ^b	43,02 ± 9,64 ^a	44,20 ± 8,61 ^a	40,42 ± 9,71 ^{ab}	45,24 ± 8,64 ^a	0,00

Letras distintas seguidas representam diferenças significativas.

Tabela 7: Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 μm , entre 20 e 50 μm e >50 μm) de tilápias alimentadas com níveis crescentes de Sangrovit® na dieta.

Classes (μm)	Níveis (mg kg^{-1})					P*
	0	50	100	150	200	
< 20	20,33 $\pm$ 3,10	18,08 $\pm$ 6,40	25,41 $\pm$ 5,10	19,16 $\pm$ 5,10	23,75 $\pm$ 7,60	0,16
20 < e > 50	76,58 $\pm$ 1,80	77,66 $\pm$ 5,00	72,33 $\pm$ 4,00	79,25 $\pm$ 6,80	73,16 $\pm$ 5,40	0,10
> 50	3,08 $\pm$ 3,02	4,25 $\pm$ 4,02	2,25 $\pm$ 2,48	1,58 $\pm$ 3,39	3,08 $\pm$ 4,25	0,29

* Não significativo para análises de variância e de regressão.

