

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

**JOSÉ RAFAEL SOARES FONSECA**

Complexo probiótico BAC-TRAT® na água e em dietas para tilápia-do-Nilo

Toledo

2019

**JOSÉ RAFAEL SOARES FONSECA**

Complexo probiótico BAC-TRAT® na água e em dietas para tilápia-do-Nilo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Mestrado e Doutorado, 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. Aldi Feiden

Toledo  
2019

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**JOSÉ RAFAEL SOARES FONSECA**

Complexo probiótico BAC-TRAT® na água e em dietas para tilápia-do-Nilo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Mestrado e Doutorado, 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.

### COMISSÃO JULGADORA

---

Prof. Dr. Aldi Feiden  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

---

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

---

Prof. Dra. Betina Muelbert  
Universidade Federal da Fronteira Sul

Aprovada em: 19 de abril de 2019  
Local de defesa: Sala 15 do Campus de Toledo.

## DEDICATÓRIA(S)

Dedico este trabalho a todos aqueles que  
contribuíram para sua realização.

## AGRADECIMENTO (S)

Primeiramente agradecer a Deus pela minha vida e por cuidar de mim o tempo todo.

À UNIOESTE pela estrutura e oportunidade fornecida em cursar uma pós-graduação.

Ao grupo GEMAg pela estrutura e amizade.

Ao CNPQ, pela bolsa de estudo que tornou possível a realização deste Trabalho.

Ao professor Doutor Aldi Feiden pela orientação, amizade e confiança.

À Minha Esposa, namorada e amiga Natalia por estar do meu lado durante toda minha caminhada.

Ao filho Pedro Rafael, que chegou, chegando para me dar mais força na minha caminhada.

Os professores: Dr. Altevir Signor, Dr. Wilson Boscolo e Dr. Fabio Bittencourt.

As pessoas que trabalharam diretamente no experimento, um agradecimento especial para Dra. Jakeline, Kerolay e Antônio Francisco.

Aos meus amigos(as) do Piauí: Karla Fernanda, Rayana Vieira, Valdir Silva e a amapaense Aline Raposo.

À Biotecnal pelo fornecimento do probiótico.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização desse trabalho.

Muito obrigado!

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas  
de publicação científica Boletim do Instituto de Pesca  
Disponível em: <<https://www.pesca.sp.gov.br>>

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....   | 8  |
| <b>1.1 Impacto na intensificação da aquicultura</b> .....  | 8  |
| <b>1.2 Qualidade do efluente na aquicultura intensiva</b> .....  | 8  |
| <b>1.3 Efeito da temperatura da água</b> .....   | 9  |
| <b>1.4 Probióticos na aquicultura intensiva</b> .....  | 10 |
| <b>1.5 Gênero <i>Bacillus</i> sp.</b> .....  | 11 |
| <b>1.6 Adição de probiótico na água</b> .....  | 13 |
| <b>1.7 Adição dos probióticos em ração</b> .....   | 14 |
| <b>1.8 Efeito no organismo do peixe</b> .....  | 15 |
| <b>2. REFERÊNCIAS</b> .....  | 17 |
| <b>Artigo:</b> Biorremediadores na aquicultura: Alterações histológicas e hematológicas em tilápia-do-Nilo suplementada com probiótico em temperaturas sub-ótimas..... | 23 |
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 25 |
| <b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....  | 26 |
| <b>2.2 Análise centesimal</b> .....  | 28 |
| <b>2.3 Coleta das amostras biológicas</b> .....  | 28 |
| <b>2.4 Análises Hematológicas</b> .....  | 29 |
| <b>2.5 Análises Histológicas</b> .....   | 29 |
| <b>2.6 Análise Estatística</b> .....   | 30 |
| <b>3 RESULTADOS</b> .....  | 30 |
| <b>4 DISCUSSÃO</b> .....   | 35 |
| <b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....   | 39 |
| <b>7 REFERÊNCIAS</b> .....   | 41 |
| <b>8 ANEXO 1</b> .....   | 47 |

## **1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **1.1 Impacto na intensificação da aquicultura**

O grande potencial hídrico do mundo vem favorecendo o desenvolvimento do empreendimento aquícola, especialmente a criação de peixes em águas continentais (MENDONÇA, 2018).

As mudanças tecnológicas juntamente com a intensificação dos sistemas produtivos na aquicultura foram essenciais para a elaboração de rações nutricionalmente completas, fertilizantes, cepas de animais, medicamentos veterinários, aeração mecânica e troca de água, favorecendo o rápido crescimento da aquicultura (HENRIKSSON *et al.*, 2018).

Devido ao crescimento e a intensificação dos sistemas de produção de organismos aquáticos, cuidados devem ser tomados no planejamento e manejo, pois, se este for feito de maneira inadequada, poderá ocasionar impacto ambiental (MENDONÇA, 2018).

Segundo MARENGONI (2013), usos incontrolados dos recursos naturais têm provocado um crescimento nos níveis de nutrientes no ambiente, causando problemas para o ecossistema aquático, principalmente pelo o uso de produtos químicos e biológicos.

Na piscicultura atual os peixes são estocados em alta densidade, causando estresse e redução da imunidade dos animais, tornando-os vulneráveis a doenças infecciosas (KUBITZA, 2009; AMARANTE *et al.*, 2018; KHATI *et al.*, 2018), e produzindo grandes quantidades de matéria orgânica e nutrientes (nitrogênio, fósforo e outros elementos), o que requer um tratamento no final do cultivo (GHALY *et al.*, 2005).

Dessa forma, vem aumentando a aplicação de antibióticos como promotores do crescimento e profilaxia de infecções em criatórios de peixes (AMARANTE *et al.*, 2018). Portanto, deve se tomar cuidado com estes antimicrobianos utilizado na piscicultura e usar só com indicação de um profissional qualificado (DA COSTA, 2008). Porém, são produtos caros, e que tem sido amplamente criticado por impactos negativos no ambiente (KHATI *et al.*, 2018).

### **1.2 Qualidade do efluente na aquicultura intensiva**

A poluição dos efluentes vem sendo um problema nos dias atuais, comprometendo o desenvolvimento e a sobrevivência dos animais e plantas (DE OLIVEIRA,

2012), além de levar ao desequilíbrio ecológico (POÇAS, 2015). Apesar da grande importância das nascentes, rios, córregos, mananciais e lençóis freáticos, a poluição vem crescendo descontroladamente (POÇAS, 2015).

O efluente de aquicultura contém grande quantidade de matéria orgânica, que pode causar a eutrofização dos tanques, dos rios e lagoas (HENRY-SILVA E CARMARGO, 2008). Além disso, causa estresse nos peixes, prejudicando a alimentação, o crescimento e causando o surgimento de doenças (LI E BOYD, 2016; KHATI *et al.*, 2018).

Segundo AKPOR e MUCHIE (2010), os principais microorganismos encontrados nas águas residuais de cultivos são vírus, bactérias, fungos e protozoários. O autor também cita, que a presença desses organismos na água é considerada como fatores críticos na proliferação de doenças, no entanto, eles podem desempenhar papéis benéficos nos efluentes das águas residuais. Além disso contém uma grande quantidade de nitrogênio e fósforo (SEFRANEK RONGVED, 2016).

YEO *et al.* (2004) cita que a qualidade do efluente de cultivo é fundamental para o bem-estar dos peixes. E o fornecimento de ração e fertilizantes estimulam a produtividade fitoplanctônica, devido ao aumento de nitrogênio e fósforo (MACEDO e SIPAÚBA-TAVARES, 2005; HURTADO *et al.*, 2018).

### **1.3 Efeito da temperatura da água**

A Região Sul do Brasil é um potencial no agronegócio e as características do clima e suas oscilações durante o ano é importante para determinar se vai ser favorável ou desfavorável para a produção agrícola e criação de animais (CERA e FERRAZ, 2015).

Os peixes têm a capacidade de manter a temperatura do corpo de acordo com a temperatura do ambiente, e cada espécie tem uma faixa de temperatura ideal para seu desenvolvimento, ou seja, são animais pecilotérmicos, sendo assim, durante a criação de peixes a temperatura é um dos fatores que mais influenciam no seu desempenho, diminuindo o metabolismo (JIAN *et al.*, 2003; PIANA *et al.*, 2003).

As temperaturas abaixo do ideal podem causar distúrbios osmorregulatórios e mudanças fisiológicas (SARDELLA *et al.*, 2004). O autor cita as três fases destas mudanças, que envolve o sistema neuroendócrino devido a liberação de catecolaminas e do corticotropina nas mudanças hematológicas, osmorregulação, enzimáticas e metabó-

licas do sangue; e diminuição do crescimento, da fecundidade, além de causar o incremento da suscetibilidade as doenças por fungos, vírus e bactérias (MAZEAUD *et al.*, 1977).

As baixas temperaturas, além de inibir o desenvolvimento da tilápia criada em regiões neotropical, também pode influenciar nas atividades terapêuticas dos probióticos durante a criação de peixes, quando eles são adicionados na água (JAHANGIRI e ESTEBAN, 2018).

#### **1.4 Probióticos na aquicultura intensiva**

Os probióticos são microorganismos que atuam como biorremediadores na qualidade da água, inclusive são biocontroladores, sendo utilizado no crescimento de organismos patogênicos e com potencial para substituir os antibióticos (REGO *et al.*, 2012).

A utilização de bactérias como biorremediadores de efluentes urbanos proporciona um método eficiente, econômico e simples para conseguir a remoção biológica de nitrogênio e fósforo (ZHAO *et al.*, 2009). Segundo AKPOR E MUCHIE (2010) as bactérias são aplicadas no tratamento secundário de águas residuais, para diminuição de compostos orgânicos dissolvidos.

As bactérias podem ser usadas em consórcio de combinação de bactérias, por exemplo, produtos com *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus polymyxa*, com adição de composto de bactérias quimioterápicas, *Nitrosomonas* spp. e *Nitrobacter* spp. para reduzir a matéria orgânica, especialmente demanda bioquímica do oxigênio (DBO), carbono orgânico e clorofila (LOPES, 2011).

O uso de bactérias heterotróficas mostra ser um grande potencial como remediador de águas residuais e efluentes industriais, desintoxicação de resíduos químicos, fertilizantes biológicos e indústrias de alimentos e combustíveis (MAULIN, 2017).

Atualmente a biorremediação por probióticos é uma alternativa importante para muitos pesquisadores que estão envolvidos em pesquisas associados à influência de bactérias benéficas no tratamento de água contaminada e diminuição de poluentes (NADERI SAMANI, 2016).

O termo probiótico, em latim “pro bios” que significa “em favor da vida”, foi utilizado pela primeira vez por LILLY e STILLIWEL (1965) para denominar uma substância secretada por protozoário. PARKER (1974) definiu como “conjuntos de orga-

nismos e substâncias que contribuem para o balanço adequado de microrganismos no trato gastrointestinal”, já para FULLER (1989) é um “suplemento alimentar microbiano vivo que afeta benéficamente o animal hospedeiro, melhorando seu equilíbrio microbiano intestinal”. Segundo RIBEIRO *et al.* (2008) uma definição clássica para o probiótico é “Organismos e substâncias de origem bacteriana que contribuem para o equilíbrio da flora intestinal, favorecendo seu crescimento e promovendo assim resistência as doenças”. Como também os termos amigáveis, benéfica ou saudáveis são comumente usados para descrever probióticos (WANG *et al.*, 2008).

Na aquicultura o uso de probiótico é uma alternativa para substituir os antibióticos (FERREIRA *et al.*, 2015), devido algumas restrições deste composto que é capaz de transferir resistência a outros microrganismos. Também elimina microrganismos benéficos, desequilibrando a microbiota intestinal (RIBEIRO *et al.*, 2008), visando contribuir com o desempenho zootécnico, saúde e no desempenho nutricional de organismos aquáticos (IBRAHEM, 2015).

Segundo DE BRITO *et al.* (2014) ainda não se tem uma composição ideal de bactérias não patogênicas de probiótico, mas a eficiência destas bactérias é especificamente dependente da quantidade e das características das cepas bacterianas utilizadas na elaboração do aditivo alimentar.

### **1.5 Gênero *Bacillus* sp.**

O gênero *Bacillus* compreende a maioria das espécies atualmente utilizadas como probiótico e o uso destes microrganismos na aquicultura foram avaliados por vários autores e em diferentes espécies de peixes e camarões (MELLO, 2012). Sendo que as espécies mais utilizadas são *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus* e bem como algumas espécies do gênero *Aeromonas* e alguns grupos de bifidobactérias (ALBUQUERQUE *et al.*, 2013).

Segundo JANEIO *et al.* (2009) as bactérias *Bacillus* podem ser utilizadas juntas com outras bactérias como Nitrobacter e enzimas lipase e protease para estudos como a qualidade de água, estabilidade do fitoplâncton e a ocorrência de vibrios luminosos, para obter crescimento e sobrevivência dos peixes.

A utilização de microrganismos do gênero *Bacillus* como remediador de água é um caminho crescente para o incremento sustentável das empresas de aquicultura. Isto se deve a rápida expansão da criação de peixes em sistema intensivo, acompanhado por

alguns problemas de manejos, sedimentação de fezes e resíduos orgânicos no efluente (XIE *et al.*, 2013). Dessa forma, os *Bacillus* também podem ser usados como controle de infecções por estreptococose (WANG *et al.*, 2017).

A Resolução Conama nº 463, de 29 de julho de 2014, “determina que os remediadores devem ser registrados junto ao Ibama para fins de comercialização e utilização, bem como necessitam de autorização prévia para a pesquisa e experimentação”. De acordo com essa Resolução, os remediadores são agentes de processo físico, químico ou biológico utilizados exclusivamente para a recuperação de ambientes contaminados e ao tratamento de efluentes e resíduos. Alguns destes remediadores registrados no IBAMA, mostra a importância do gênero *Bacillus* no tratamento de efluente das grandes empresas (Tabela 1 e Anexo 1).

**Tabela 1:** Remediadores registrados no Ibama.

| PRODUTOS         | INDICAÇÃO DE USO  | INGREDIENTES ATIVOS   | NÚMERO REGISTRO |
|------------------|---|---|-----------------|
| PROTARGAL BIO 45 | Utilizado em lagoas aeróbicas e anaeróbicas, degradação de compostos de amônia e estabilidade do sistema.   | <i>Bacillus subtilis</i> ,<br><i>Bacillus licheniformis</i><br><i>e Bacillus pumillus</i>   | 3869/16-05      |
| BAC TRAT         | Tratamento de efluentes de criação de animais.  | <i>Bacillus subtilis</i> ,<br><i>Bacillus licheniformis</i> ,<br><i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ,<br><i>Bacillus cereus e Lactococcus lactis ssp. Lactis</i> | 1369/12-05      |
| BIOMIX           | Corpos receptores de água com alta carga de matéria orgânica (córregos, rios, açudes e lagoas), para degradar matéria orgânica (óleos e graxas, compostos nitrogenados e fontes de carbono) | <i>Bacillus subtilis</i> ,<br><i>Bacillus licheniformis</i><br><i>e Bacillus cereus</i>   | 347/12-10       |
| ALPHA 7000 S     | Tratamento de efluentes, atuando na degradação de Óleos e Graxas, Demanda Química   | <i>Bacillus subtilis</i>  | 5313/10-50      |

|                        | de Oxigênio e Demanda Bioquímica de Oxigênio  |  |            |
|------------------------|---|--|------------|
| BIOGENIUN SUPERMIX GTi | Tratamento de efluentes de indústrias de alimentos, de papel, celulose e esgoto                   | <i>Bacillus licheniformis</i> ,<br><i>Bacillus subtilis</i> ,<br><i>Bacillus polymyxa</i> ,<br><i>Bacillus megaterium</i> ,<br><i>Yarrowia lipolytica</i> e<br><i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 4703/11-93 |
| BIOGENIUN 2000i        | Tratamento de efluentes de indústrias de alimentos, indústrias de bebida e indústrias químicas    | <i>Bacillus subtilis</i>   | 3119/11-11 |
| MICROPAN NORMAL        | Tratamento de efluentes industriais, lagoas de decantação, esgotos e em córregos, canais e lagoas | <i>Bacillus subtilis</i>   | 9590/09-06 |

**Fonte:** Ibama, 2017.

### 1.6 Adição de probiótico na água

A utilização de probióticos para melhorar as condições dos efluentes de aquicultura, vem sendo utilizado cada vez mais pelos piscicultores devido suas ações positivas na qualidade da água, decomposição de várias matérias orgânicas e remoção dos nutrientes (IBRAHEM, 2015).

Estes microrganismos também agem sobre as sobras de ração, que não são consumidas durante a alimentação, que posteriormente através da formação de aglomerados destes organismos são aproveitados os nutrientes (FERREIRA *et al.*, 2012).

Os probióticos podem ser adicionados na água (VAN HAI, 2015), e converter matéria orgânica em CO<sub>2</sub> (LARA-FLORES e AGUIRRE-GUZMAN, 2009), sendo usado na produção de juvenis de *Penaeus monodon*, com adição de níveis elevados de *Bacillus* spp. (GATESOUBE, 2008) e na produção de tilápia (FERREIRA *et al.*, 2015).

Segundo TAPIA-PANIAGUA *et al.* (2010), os probióticos devem ser aplicados na água constantemente durante um determinado período para obter um bom funcionamento, em virtude das condições ambientais que sofrem alterações constantemente

nas variações de oxigênio dissolvido, densidade de estocagem, crescimento dos organismos, salinidade, temperatura e pH.

É importante determinar a dose no tratamento, calculando de acordo com a quantidade de peixes ou volume de água, observando o tempo de inoculação que deve ser renovada durante o tempo de tratamento, e idade dos peixes tratados, pois quanto mais jovem o peixe mais eficaz a ação dos probióticos e, para espécies de peixes marinhos, deve se medir a salinidade da água devido diminuir a sobrevivência de bactérias probióticas (JAHANGIRI e ESTEBAN, 2018).

### **1.7 Adição dos probióticos em ração**

O uso de probióticos misturado na ração de peixes serve como aditivos para melhorar o desempenho, crescimento, resposta imune a outros organismos e melhorar a sobrevivência (NAKANDAKARE *et al.*, 2013), e mostrando bons resultados quando os peixes são submetidos a algum tipo de estresse (FERREIRA *et al.*, 2012). De acordo com estes pontos positivos, estão sendo utilizado pelos piscicultores em ração para pós-larvas, alevinos e adultos de tilápias, além de outros peixes (ALBUQUERQUE *et al.*, 2013; MELLO *et al.*, 2013; DE AZEVEDO *et al.*, 2016).

Vários estudos utilizam diferentes tipos de probióticos comerciais na ração, outros fazem meio de cultivos destes organismos que servirão de suplemento para peixes (LANNA FILHO *et al.*, 2010; NAKANDAKARE *et al.*, 2013).

Estes organismos na forma de pó são misturados no óleo vegetal (NAKANDAKARE *et al.*, 2013) ou óleo animal (CARVALHO *et al.*, 2011) a 2% ou 3% do peso da ração e incorporado por borrifamento, mas segundo NAKANDAKARE *et al.* (2013), pode ser incorporado durante a fabricação, sem prejudicar o organismo ou após a elaboração da ração.

Segundo WANG *et al.* (2017) que estudou a adição de *B. cereus* na ração e na água, o uso deste probiótico afetou as bactérias intestinais autóctones da tilápia e estimulou as bactérias benéficas atuantes na melhora da absorção dos nutrientes e estado imunológico da tilápia.

Na água ou na ração o uso dos probióticos causa colonização intestinal, aumenta a taxa de sobrevivência influenciando no consumo de ração, biomassa total, receita bruta e custos operacionais parciais e receita líquida da produção (GARCIA-MARENGONI e MENEZES-ALBUQUERQUE, 2017).

Na tabela 2 podem ser observados alguns estudos com a utilização de probióticos na ração e na água de criação de peixe.

**Tabela 2:** Pesquisas com probióticos adicionado à ração e na água.

| Microrganismos   | Concentração   | Tempo   | Aplicação | Referência                            |
|--|--|---------|-----------|---------------------------------------|
| <i>B. subtilis</i>   | 20kg/t   | 30 dias | Ração     | ZUENKO <i>et al.</i> (2017)           |
| <i>B. subtilis</i>   | 2,5x10 <sup>5</sup> e 5,0x10 <sup>5</sup>                                | 56 dias | Ração     | HE <i>et al.</i> (2013)               |
| <i>B. subtilis</i>   | 5,0x10 <sup>6</sup>  | 84 dias | Ração     | TELLI <i>et al.</i> (2014)            |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>   | 10 <sup>7</sup>  | 42 dias | Ração     | RAMÍREZ <i>et al.</i> (2013)          |
| <i>B. subtilis</i> ,<br><i>B. licheniformis</i> e <i>B. pumilus</i>  | 5,0x10 <sup>10</sup>   | 10 dias | Água      | REGO <i>et al.</i> (2012)             |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>   | 1,0x10 <sup>8</sup> UFC mL <sup>-1</sup>                                 | 30 dias | Ração     | DE SOUZA <i>et al.</i> (2018)         |
| <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> e <i>B. polymyxa</i>  | 2,1x10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>                                 | 90 dias | Água      | LOPES <i>et al.</i> (2011)            |
| <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. late-rosporus</i><br><i>B. circulans</i> | 1,0x10 <sup>6</sup> , 1,0x10 <sup>7</sup> e<br>1,0x10 <sup>8</sup> UFC/L | 4 dias  | Água      | NADERI<br>SAMANI <i>et al.</i> (2016) |
| <i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i>  | 4,0x10 <sup>8</sup> UFC g <sup>-1</sup>                                  | 80 dias | Ração     | MELLO,<br>(2012)                      |
| <i>B. subtilis</i>   | 1,1x10 <sup>5</sup> UFC/g  | 84 dias | Ração     | HASSAAN <i>et al.</i> (2018)          |

Estes dois métodos de aplicação de probiótico tem vários efeitos positivos na criação de peixes, mais para LIU e HAN (2004), as suas duas principais funções são a capacidade de controlar a qualidade da água por biorremediação e o biocontrole de organismos patogênicos através de efeitos antagônicos.

### 1.8 Efeito no organismo do peixe

A ação dos probióticos no organismo trabalha com a estimulação da imunidade, fazendo que ocorra o aumento de anticorpos para reduzir a proliferação de bactérias

patogênicas, produção de enzimas digestivas, síntese de vitaminas e metabólitos que neutralizam toxinas bacterianas que aumentam a imunidade na mucosa intestinal (RIBEIRO *et al.*, 2008).

De acordo com FERREIRA *et al.* (2012) os benefícios da utilização do probiótico são favoráveis para o piscicultor, por motivo destes microrganismos contribuírem para o bem-estar do animal (NOFFS *et al.*, 2015), aumentar a imunidade (NAKANDAKARE *et al.*, 2013), e ainda auxiliar na absorção dos nutrientes da ração.

De acordo com NAYAK (2010) os probióticos ideais são aqueles que independente da fonte, tem que ser capaz de colonizar, estabelecer e se multiplicar no intestino do hospedeiro. Sendo também usados em conjunto com probiótico que não são digeríveis por enzimas, sais e ácidos produzidos no organismo, mas são fermentados pelos microrganismos do trato gastrointestinal (DE AZEVEDO *et al.*, 2016).

Os microrganismos intestinais do peixe podem sofrer alterações com a presença de outros microrganismos não patogênicos, que causa competição entre os indivíduos por espaço e reduzindo a presença de indivíduos patogênicos oportunistas (IBRAHEM, 2015).

Estudos mostram as alterações na vilosidade intestinal com o uso destes microrganismos (HISANO *et al.*, 2006), contribuindo com a digestão dos alimentos e competindo com os microrganismos patogênicos pelos nutrientes (FERREIRA *et al.*, 2012). Também aumentando a altura dos vilos que melhora a integridade da mucosa e induz o aumento da espessura dos epitélios das vilosidades, surgindo hipertrofia como resposta positiva ao estímulo (CARVALHO *et al.*, 2011).

Os probióticos no sistema digestivo dos peixes podem alterar os parâmetros bioquímicos do quimo e melhorar as atividades das enzimas protease e amilase, ainda diminui os conteúdos de nitrogênio no quimo, por causa das absorções de proteínas e metabólitos nitrogenados (amônia e ureia) (ZUENKO *et al.*, 2017).

Para RUIZ (2016) a hematologia é um método de análise muito importante que mostra o estado de saúde dos animais que são alimentados com probióticos. Segundo NAYAK (2010), a aplicação de probióticos na alimentação de peixes podem aumentar o número de eritrócitos e leucócitos, desta forma, aumenta os benefícios imunológicos dos peixes. JESUS *et al.* (2014) verificaram que as células sanguíneas sofrem alterações positivas com o uso de cepas de bactérias probióticas, podendo aumentar a quantidade e a qualidade destas células, melhorando as respostas imunológicas em tilápias-do-Nilo alimentada com probióticos.

## 2. REFERÊNCIAS

- AKPOR, O. B.; MUCHIE, M. 2010 Bioremediation of polluted wastewater influent: phosphorus and nitrogen removal. *Scientific Research and Essays*, 5(21):3222-3230.
- ALBUQUERQUE, D. M.; MARENGONI, G. N.; 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(8): 1503-1508.
- AMARANTE, J. F.; KOLLING, L.; FERRONATO, A. I.; VARGAS, A. C.; COSTA, M. M., AMARANTE, T. A. B. 2018 Resistência aos antimicrobianos de bactérias obtidas de carpas (*Cyprinus carpio*) cultivadas em sistema semi-intensivo. *Ciência Animal Brasileira*, 19(1): 1-7
- CARVALHO, J. V.; LIRA, A. D. D.; COSTA, D. S. P.; MOREIRA, E. L. T.; PINTO, L. F. B.; ABREU, R. D.; E ALBINATI, R. C. 2011 Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com " *Bacillus subtilis*" ou mananoligossacarídeo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 12(1).
- CERA, J. C.; FERRAZ, S. E. T. 2015 Variações climáticas na precipitação no sul do Brasil no clima presente e futuro. *Revista Brasileira de Meteorologia*, 30(1).
- CYRINO, J. E. P.; BICUDO, Á. J. D. A.; SADO, R. Y.; BORGHESI, R.; DAIRIK, J. K. 2010 A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(1): 68-87.
- DA COSTA, M. M.; PEIXOTO, R. D. M.; DE LIMA, C.; BOIJINK, L. C.; MEURER, F.; DE VARGAS, A. C. 2008 Sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de Jundiá (*Rhamdia quelen*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28(10):477-480.
- DE AZEVEDO, R. V.; FOSSE FILHO, J. C.; PEREIRA, S. L.; CARDOSO, L. D.; JÚNIOR, M. V. V.; DE ANDRADE, D. R. 2016 Suplementação com probiótico, probiótico e simbiótico para juvenis de tambaqui a duas densidades de estocagem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(1): 9-16.
- DE BRITO, J. M.; FERREIRA, A. H. C.; JUNIOR, A.; ARARIPE, M.; LOPES, J.; DUARTE, A.; RODRIGUES, V. 2014 Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de não-ruminantes, revisão. *Revista Eletrônica Nutritime*, 11(1): 3070-3084.
- DE SOUZA, R. M.; SUGAI, J. K.; MOURIÑO, J. L. P.; CERQUEIRA, V. R. 2018 *Lactobacillus plantarum* como probiótico no desenvolvimento inicial de juvenis do robalo-peva. *Arquivos de Ciências do Mar*, 50(2):72-80.

FEIDEN, A.; BOSCOLO, W. R.; SIGNOR, A.; SIGNOR, A. A.; E REIDEL, A. 2005 Tilapia by-product meal in rations for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Semina: Ciências Agrárias*, 26(2):249-256.

FERREIRA, A. H. C.; BRITO, J. M. D.; LOPES, J. B.; SANTANA JÚNIOR, H. A. D.; BATISTA, J. M. M.; SILVA, B. R.; AMORIM, I. L. D. S. 2015 Probiótico na alimentação de pós-larvas de tilápias-do-Nilo submetidas a desafio sanitário. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 16(2) 430-439.

FERREIRA, A. H. C.; ARARIPE, M. N. B. A.; MONTEIRO, C. A. B.; LOPES, J. B.; HARARIPE, H. G. A. 2012 Uso de probióticos na aquicultura: revisão. *Revista Eletrônica Nutritime*, 9(5):1965-1980.

FULLER R. 1989 Probiotics in man and animals. *Journal of applied bacteriology*, 66:365-78.

MARENGONI, G. N.; ALBUQUERQUE, M. D. 2015 Quantification of intestinal bacteria, operating cost and performance of fingerlings Nile tilapia subjected to probiotics. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43(2): 367-373.

GATESOUBE, F. J. 2008 Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 14:107-114.

GHALY, A. E.; KAMAL, M.; MAHMOUD, N. S. 2005 Phytoremediation of aquaculture wastewater for water recycling and production of fish feed. *Environment International*, 31(1):1-13.

HASSAAN, M. S.; SOLTAN, M. A.; JARMOŁOWICZ, S.; ABDO, H. S. 2018 Combined effects of dietary malic acid and *Bacillus subtilis* on growth, gut microbiota and blood parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, 24(1):83-93.

HE, S.; ZHANG, Y.; XU, L.; YANG, Y.; MARUBASHI, T.; ZHOU, Z.; YAO, B. 2013 Effects of dietary *Bacillus subtilis* C-3102 on the production, intestinal cytokine expression and autochthonous bacteria of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 412:125-130.

HENRIKSSON, P. J. G.; BELTON, B.; MURSHED-E-JAHAN, K.; RICO, A. 2018 Measuring the potential for sustainable intensification of aquaculture in Bangladesh using life cycle assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 115(12): 2958-2963.

HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M.; PEZZATO, L. E. 2006 Digestibilidade aparente de macrófitas aquáticas pela tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e qualidade da água em relação às concentrações de nutrientes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(3):641-647.

HISANO, H.; DAL PAI SILVA, M.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. 2006 Levedura íntegra e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, 28(4): 311-318.

HURTADO, F. B.; FIGUEIREDO, F. M.; DA COSTA, R. L.; BOMFIM, S. C.; DE QUEIROZ, C. B.; PONTES, W. P. 2018 Parâmetros limnológicos em viveiros de piscicultura semi-intensiva de tambaqui com abastecimento em disposição sequencial. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, 11(1): 9-30.

IBRAHEM, M. D. Evolution of probiotics in aquatic world: potential effects, the current status in Egypt and recent prospectives. *Journal of advanced research*, 6(6): 765-791.

JAHANGIRI, L.; ESTEBAN, M. 2018 Administration of Probiotics in the Water in Finfish Aquaculture Systems: A Review. *Fishes*, 3(3): 33.

JANEO, R. L.; CORRE, V. L.; SAKATA, T. 2009 Water quality and phytoplankton stability in response to application frequency of bioaugmentation agent in shrimp ponds. *Aquacultural engineering*, 40(3):120-125.

JESUS, G. F. A. 2014 Weissella cibaria e sua ação probiótica no trato intestinal de surubins híbridos. Florianópolis-SC. 90f. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC). Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/129543>>

JIAN, C. Y.; CHENG, S. Y.; CHEN, J. C. 2003 Temperature and salinity tolerances of yellowfin sea bream, *Acanthopagrus latus*, at different salinity and temperature levels. *Aquaculture Research*, 34(2):175-185.

KHATI, A.; CHAUHAN, R. S; NAZIR, I. ARYA, P. 2018 Improved fish health: Key to successful aquaculture. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(2): 898-902

KUBITZA, F. 2009 Manejo na produção de peixes. *Panorama da Aquicultura*, 19(111):14-27.

LALLOO, R.; RAMCHURAN, S.; RAMDUTH, D.; GÖRGENS, J.; GARDINER, N. 2007 Isolation and selection of Bacillus spp. as potential biological agents for enhancement of water quality in culture of ornamental fish. *Journal of Applied Microbiology*, 103(5):1471-1479.

- LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; DE PINHO, R. S. C. 2010 Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. *Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas*, 4(2): 12-20.
- LARA-FLORES, M., AGUIRRE-GUZMAN, G. (2009) The use of probiotic in fish and shrimp aquaculture. A review. Probiotics: production, evaluation and uses in animal feed. *Research Signpost*, 75-89.
- LI, Y. ; BOYD, C. E. 2016 Influence of a Bacterial Amendment on Water Quality in Small Research Ponds for Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*, Production. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47(4): 464-469.
- LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. 1965 Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659):747-748.
- LIU, F.; HAN, W. 2004. Reuse strategy of wastewater in prawn nursery by microbial remediation. *Aquaculture*, 230(1-4): 281–296.
- LOPES, R. B.; OLINDA, R. A.; SOUZA, B. A. I.; CYRINO, J. E. P.; DIAS, C. T. S.; QUEIROZ, J. F.; TAVARES, L. H. S. 2011 Efficiency of bioaugmentation in the removal of organic matter in aquaculture systems. *Brazilian Journal of Biology*, 71(2):409-419.
- MACEDO, C. F; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. 2005 Comunidade planctônica em viveiros de criação de peixes em disposição sequencial. *Boletim do Instituto de Pesca*, 31(1): 21-27.
- MARENGONI, N. G.; KLOSOWSKI, E. S.; OLIVEIRA, K. D.; CHAMBO, A. P. S.; GONÇALVES JUNIOR, A. C. 2013 Bioacumulação de metais pesados e nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da usina hidrelétrica de Itaipu binacional. *Química Nova*, 36(3):359-363.
- MAULIN, P. S. 2017 Environmental Bioremediation of Industrial Effluent. *Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 2:1-2.
- MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F; DONALDSON, E.M. 1977 Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Transactions of the American Fisheries Society*. 106(3):210 - 212.
- MELLO, H. D. 2012 *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* na suplementação dietária de juvenis de Tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e seu efeito probiótico. Jaboticabal-SP. f44. (Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista-Unesp).

- MELLO, H. D.; MORAES, J.; NIZA, I. G.; MORAES, F. R. D.; OZÓRIO, R.; SHIMADA, M. T.; CLAUDIANO, G. 2013 Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(6): 724-730.
- MENDONÇA, G. C. D. 2018 Aspectos limnológicos de um sistema artificial receptor de resíduos de aquicultura. Jaboticabal-SP. f82 (Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista-Unesp).
- NADERI SAMANI, M.; JAFARYAN, H.; GHOLIPOUR, H.; HARSIJ, M.; FARHANGI, M. 2016 Effect of different concentration of profitable *Bacillus* on bioremediation of common carp (*Cyprinus carpio*) pond discharge. *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 2(2):44-54.
- NAKANDAKARE, I. B.; IWASHITA, M. K. P.; DIAS, D. D. C.; TACHIBANA, L., RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ROMAGOSA, E. 2013 Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilapias-do-Nilo: parâmetros hematológicos, imunológicos e microbiológicos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 39(2): 121-135.
- NAYAK, S. K. (2010). Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish & shellfish immunology*, 29(1):2-14.
- NOFFS, A. P.; TACHIBANA, L.; SANTOS, A. A.; RANZANI-PAIVA, M. J. T. 2015 Common snook fed in alternate and continuous regimens with diet supplemented with *Bacillus subtilis* probiotic. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 50(4):267-272.
- PARKER, R. B. 1974 Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition Health*, 29(19):4-8.
- PIANA, P. A.; BAUMGARTNER, G.; GOMES, L. C. 2003. Influência da temperatura sobre o desenvolvimento de juvenis de piapara (*Leporinus cf. obtusidens*). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 25(1): 87-94.
- POÇAS, C. D. (2015). Utilização da tecnologia de wetlands para tratamento terciário: controle de nutrientes. Tese, Universidade de São Paulo.
- RAMÍREZ, N. B.; SEIFFERT, W. Q.; DO NASCIMENTO VIEIRA, F.; 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. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8):913-919.
- REGO, M.; SILVA, E.; CALAZANS, N.; VOGLEY, J.; NERY, R.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. 2012 Utilização de probiótico e antibiótico no cultivo de pós-larvas do camarão Branco *Litopenaeus vannamei*. *Atlântica (Rio Grande)*, 34(2):137-143.

- RIBEIRO, P. A. P.; COSTA, L. S.; LOGATO, P. V. R. 2008 Probióticos na aquicultura. *Revista Nutritime*, 6(1):837-846.
- RUIZ, M. L. (2016). Diferentes concentrações de *Lactobacillus plantarum* em dietas para tilápia-do-Nilo.
- SARDELLA, B. A.; COOPER, J.; GONZALEZ, R. J.; BRAUNER, C. J. 2004 The effect of temperature on juvenile Mozambique tilapia hybrids (*Oreochromis mossambicus* x *O. urolepis hornorum*) exposed to full-strength and hypersaline seawater. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 137(4):621-629.
- SEFRANEK RONGVED, A. K. (2016). Characterization of Nitrogen Dynamics in Different Recirculation Systems. Dissertação, NTNU.
- TAPIA-PANIAGUA, S. T.; CHABRILLÓN, M., DÍAZ-ROSALES, P.; DE LA BANDA, I. G.; LOBO, C.; BALEBONA, M.; C., MORIÑIGO, M. A. 2010. Intestinal microbiota diversity of the flat fish *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) following probiotic administration. *Microbial ecology*, 60(2):310-319.
- TELLI, G. S.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; DE CARLA DIAS, D.; 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 immunology*, 39(2):305-311.
- VAN HAI, N. 2015 Research findings from the use of probiotics in tilapia aquaculture: a review. *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2):592–597.
- WANG, M.; LIU, G.; LU, M.; KE, X.; LIU, Z.; GAO, F.; YU, D. 2017 Effect of *Bacillus cereus* as a water or feed additive on the gut microbiota and immunological parameters of Nile tilapia. *Aquaculture Research*, 48(6):3163-3173.
- WANG, Y. B.; LI, J. R.; LIN, J. 2008. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture*, 281(1-4):1-4.
- XIE, F.; ZHU, T.; ZHANG, F.; ZHOU, K.; ZHAO, Y.; LI, Z. (2013). Using *Bacillus amyloliquefaciens* for remediation of aquaculture water. *SpringerPlus*, 2(1):119.
- YEO, S. E., BINKOWSKI, F. P., MORRIS, J. E. (2004). Aquaculture Effluents and Waste By-Products Characteristics, Potential Recovery, and Beneficial Reuse. f48.
- ZHAO, S.; HU, N.; CHEN, Z.; ZHAO, B.; LIANG, Y. 2009 Bioremediation of reclaimed wastewater used as landscape water by using the denitrifying bacterium *Bacillus cereus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 83(3):337-340.

ZUENKO, V. A.; LAKTIONOV, K. S.; PRAVDIN, I. V.; KRAVTSOVA, L. Z.; USHAKOVA, N. A. 2017 Effect of *Bacillus subtilis* in feed probiotic on the digestion of fish cultured in cages. *Journal of Ichthyology*, 57(1):152-157.

### Artigo

#### Normas da Revista: Boletim do Instituto de Pesca

**Artigo:** Complexo probiótico BAC-TRAT® na água e em dietas para tilápia-do-Nilo

### RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do probiótico em duas formas de aplicação (na ração e na água de criação), sobre o desempenho zootécnico, alterações hematólicas, intestinais e hepáticas da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), mantida em condições de baixa temperatura. Foram utilizados 108 juvenis com peso médio inicial de  $8,41 \pm 0,7$  g e  $8,09 \pm 0,5$  cm de comprimento total, distribuídos aleatoriamente em 18 tanques experimentais de capacidade de 18 L e com seis peixes em cada unidade experimental, durante 40 dias, em diferentes grupos: tratamento controle (T0), sem receber probiótico; adição de probiótico na água (T1) e ração com probiótico (T2). Para as análises de desempenho zootécnico da tilápia-do-Nilo, não houve variação significativa ( $p > 0,05$ ). Com relação aos parâmetros hematológicos, verificou-se efeitos significativos de leucócitos e linfócitos ( $p < 0,05$ ) para os peixes que receberam probióticos na ração e os que não receberam, sendo constatada redução nos valores comparado ao tratamento controle e nenhum efeito foi verificado no número de neutrófilos e monócitos e na glicose sanguínea, após o experimento. Para a composição centesimal da carcaça observou-se que a aplicação do probiótico na água determinou aumentos significativos nos teores de extrato etéreo, enquanto que o conteúdo de cinzas verificou-se valores superiores nos peixes que receberam probiótico na água e na ração. A morfologia das vilosidades intestinais (altura, largura e espessura da túnica) e histomorfometria dos núcleos dos hepatócitos (perímetro, área, volume e circularidade), diferiu ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos e revelaram efeitos associados as melhorias na disponibilidade de nutrientes quando o probiótico foi administrado em ambas as formas. Concluiu-se, o uso de probiótico durante baixas temperaturas não apresenta efeitos benéficos ao crescimento da tilápia-do-Nilo, mas contribuiu para o aumento da área dos vilos e influenciou a área e o volume do núcleo dos hepatócitos.

**Palavras-chave:** Água, Crescimento, Peixes, Probiótico, Ração.

**ABSTRACT**

The aim of this work was to evaluate the effects of the probiotic in two ways of application (feeding and water), on zootechnical performance, hematological, intestinal and hepatic alterations of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), maintained at low temperature conditions. Were used 108 juveniles with an initial mean weight of  $8.41 \pm 0.7$  g and  $8.09 \pm 0.5$  cm of total length, randomly distributed in 18 tanks with 18 L capacity and six fishes in each experimental unit for 40 days in different groups: control treatment (T0), without receiving probiotic; addition of probiotic in water (T1) and probiotic diet (T2). For the analyzes of zootechnical performance of tilapia, there was no significant variation ( $p > 0.05$ ). Regarding hematological parameters, there were significant leukocyte and lymphocyte effects ( $p < 0.05$ ) for the fish that received probiotics in the diet and those that not received, being observed a reduction in the values compared to the control and none effect was observed on the number of neutrophils and monocytes and on blood glucose after the experiment. For the centesimal composition of the carcass it was observed that the application of the probiotic in the water caused significant increases in the contents of ethereal extract, whereas the ash content was higher values in fish that received probiotic in water and in feed. The morphology of intestinal villi (height, width and ply of the tunic) and histomorphometry of hepatocyte nuclei (perimeter, area, volume and circularity) differed ( $p < 0.05$ ) between treatments and revealed effects associated with improvements in nutrient availability when the probiotic was applied in both forms. It is concluded that the use of probiotic during low temperatures does not present beneficial effects to the growth of Nile tilapia, but it contributes to the increase of the villi area and influenced the area and the volume of the nucleus of the hepatocytes.

**Keywords:** Water, Growth, Fish, Probiotic, Feed.

## 1 INTRODUÇÃO

A intensificação da aquicultura no mundo vem transformando os sistemas de criação de peixes em uma agroindústria, estando diretamente relacionado com a produtividade, com o crescimento da atividade e as novas tecnologias de produção (HENRIKSSON *et al.*, 2018).

Com o aumento das atividades de criação de peixes começaram a surgir as enfermidades (KHATI *et al.*, 2018), resultando em perdas devastadoras economicamente (JAHANGIRI e ESTEBAN, 2018), com isso os antibióticos foram aplicados para combater as enfermidades bacterianas. Mas a utilização inadequada deste medicamento causou a seleção de organismos mais resistentes, desequilibrando o meio ambiente (JATOBÁ *et al.*, 2008; AMARANTE *et al.*, 2018). Devido a este problema causado pelos antibióticos, ocorreu a diminuição do seu uso, sendo substituído por compostos, tais como os probióticos, com potencial de diminuir as enfermidades, eliminar bactérias patogênicas e estimular o sistema imunológico dos animais (WANG *et al.*, 2017), além de melhorar a digestão (VERSCHUERE *et al.*, 2000; IBRAHEM, 2015).

A aplicação de probióticos na aquicultura vem sendo praticado cada vez mais pelos piscicultores em várias partes do mundo, inclusive no Brasil, sendo encontrado diversos produtos no mercado com diferentes tipos de bactérias gram-positiva com potencial na nutrição de peixes e ciclagem de nutrientes nos viveiros.

De acordo com vários trabalhos científicos, as formas de administração de probióticos na aquicultura são através da alimentação, por meio da incorporação desses microrganismos na ração, ou adicionado diretamente na água (JAHANGIRI e ESTEBAN, 2018).

Em ambas as formas de aplicação verifica-se efeitos positivos sobre o crescimento do animal, aumentando a tolerância aos estresses durante criação e melhorando a imunidade dos peixes, ou seja, é considerado essencial para o bem-estar dos animais (NAKANDAKARE *et al.*, 2013; NOFFS *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2017).

O sul do Brasil é uma região de temperaturas baixas e com oscilações, principalmente durante o inverno, porém, temperaturas baixas são preocupantes para a criação de tilápias (REBOUÇAS *et al.*, 2014), e essas oscilações de temperaturas fazem com que os peixes parem de se alimentar, ficando vulneráveis a doenças (REBOUÇAS *et al.*, 2014). Tendo em vista este problema, os probióticos são usados durante o inverno por alguns piscicultores para melhorar o desempenho e bem-estar do animal. No entanto, as

doses indicadas e modo de aplicação ainda são fatores que requerem investigação visando a obtenção de melhores resultados zootécnicos.

A tilápia-do-Nilo em temperaturas abaixo do seu ideal, além do menor crescimento, apresenta maior vulnerabilidade às doenças devido a redução da imunidade desencadeada pelas repostas de estresse por baixa temperatura (MAZEAUD *et al.*, 1977; SARDELLA *et al.*, 2004). Consequência disso é o aumento da mortalidade durante sua criação em períodos de registros de temperaturas críticas. Segundo SIGNOR *et al.* (2010) tais condições podem causar distúrbios osmorregulatórios e mudanças fisiológicas que refletem em alteração do perfil hematológico. Portanto, estudos que avaliem os efeitos do probiótico sobre as condições de saúde dos animais durante períodos de exposição a baixas temperaturas tornam-se relevantes, uma vez que podem fornecer subsídios importantes para adequação do manejo e preparo do peixe ao enfrentamento de condições adversas.

Devido a estas possíveis ações benéficas e aos prejuízos associados à exposição a temperaturas abaixo do conforto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do probiótico em duas formas de aplicação, na ração e na água de criação, sobre o desempenho zootécnico, alterações hematológicas, intestinais e hepáticas da tilápia-do-Nilo mantida em condições de baixa temperatura.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Procedimento experimental**

Foram utilizados 108 juvenis de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso médio inicial de  $8,41 \pm 0,7$  g e  $8,09 \pm 0,5$  cm de comprimento total, distribuídos aleatoriamente em 18 tanques com capacidade de 18 L e com seis peixes em cada unidade experimental, com renovação de água constante. O experimento foi realizado no laboratório de aquicultura da Unioeste campus de Toledo-PR, durante a ocorrência de temperaturas baixas na região e, portanto, esta condição foi alcançada mediante à variação diária ocorrida no período de 40 dias (julho a agosto de 2018).

O arraçoamento foi realizado três vezes ao dia até saciedade aparente, com ração comercial extrusada (tamanho 2,0 mm e 35% de proteína bruta) sem probiótico durante 5 dias para aclimação e, posteriormente, durante os 40 dias subsequentes os peixes, em diferentes grupos, foram submetidos aos tratamentos controle (T0), sem receber

probiótico na água e ração; adição de probiótico na água (T1) e ração com probiótico (T2). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado composto por três tratamentos e seis repetições.

A composição da ração foi formada por: Farelo de milho desengordurado, Milho integral moído, Farelo de soja, Farelo de trigo, Farinha de carne e ossos, Calcário calcítico, Cloreto de Sódio (sal comum), Metionina, Lisina, Antifúngico, Premix vitamínico e mineral. Na tabela 1 encontram-se os níveis de garantia detalhada da ração comercial para peixes em fase de crescimento criado em sistema intensivo.

**Tabela 1:** Níveis de garantia apresentado no rótulo da ração comercial utilizada na alimentação da tilápia-do-Nilo.

| <b>Níveis de Garantia</b> |                 |                        |             |
|---------------------------|-----------------|------------------------|-------------|
| <b>Umidade</b>            | 120,0 g/kg      | <b>Vitamina B6</b>     | 6,0 mg/kg   |
| <b>Proteína bruta</b>     | 350,0 g/kg      | <b>Vitamina B12</b>    | 10,0 µg/kg  |
| <b>Extrato etéreo</b>     | 50,0 g/kg       | <b>Biotina</b>         | 0,5 mg/kg   |
| <b>Matéria fibrosa</b>    | 50,0 g/kg       | <b>Antioxidante</b>    | 120,0 mg/kg |
| <b>Matéria mineral</b>    | 80,0 g/kg       | <b>Ác. Nicotínico</b>  | 30,0 mg/kg  |
| <b>*Energia bruta</b>     | 4.127,5 kcal/kg | <b>Ác. Pantotênico</b> | 10,0 mg/kg  |
| <b>Calcio (mínimo)</b>    | 10,5 g/kg       | <b>Ác.Fólico</b>       | 0,5 mg/kg   |
| <b>Calcio (máximo)</b>    | 15,0 g/kg       | <b>Ferro</b>           | 40,0 mg/kg  |
| <b>Fosforo</b>            | 5.000,0 mg/kg   | <b>Cobre</b>           | 8,0 mg/kg   |
| <b>Vitamina C</b>         | 450,0 mg/kg     | <b>Manganês</b>        | 70,0 mg/kg  |
| <b>Vitamina A</b>         | 8.000,0 UI/kg   | <b>Zinco</b>           | 50,0 mg/kg  |
| <b>Vitamina D3</b>        | 2.100,0 UI/kg   | <b>Iodo</b>            | 1,2 mg/kg   |
| <b>Vitamina E</b>         | 100,0 UI/kg     | <b>Selênio</b>         | 0,12 mg/kg  |
| <b>Vitamina K3</b>        | 3,0 mg/kg       | <b>Colina</b>          | 500,0 mg/kg |
| <b>Vitamina B1</b>        | 2,0 mg/kg       | *                      | *           |
| <b>Vitamina B2</b>        | 4 mg/kg         | *                      | *           |

**Fonte:** Kowalski: ração para peixe. \*Energia bruta calculada de acordo com o valor do calor de combustão de 9,44; 4,11 e 5,64 kcal/g para lipídeos, carboidratos e proteínas, respectivamente (BLAXTER, 1989).

A temperatura (°C) da água foi medida diariamente pela manhã e à tarde. Os demais parâmetros, tais como pH, oxigênio dissolvido (mg/l) e condutividade elétrica(μs/cm) da água e sólidos totais dissolvidos(mg/l), foram mensurados diariamente pela tarde com multiparametro, sempre antes do sifonamento do fundo dos tanques.

O aditivo probiótico em pó (probiótico liofilizado) utilizado continha  $1,25 \times 10^8$  UFC/g, formando um complexo de bactérias (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus* e *Lactococcus lactis*), que foram misturados em 2% de óleo de soja referente ao peso da ração e adicionado manualmente na ração comercial, sendo misturado por 10 minutos até completa homogeneização. A quantidade de probiótico g/kg adicionada foi estabelecida de acordo com a recomendação do fabricante obtida por meio do cálculo: Quantidade de ração (g) X fator 0,17.

No início e final do experimento foi realizada a biometria para obtenção das medidas individuais de peso e comprimento total dos peixes, que posteriormente foram empregadas no cálculo e avaliação das variáveis zootécnicas. Foram determinados a Sobrevivência (SO) = (n° de peixes no final/número de peixes inicial) x 100; Ganho de peso (GP) = peso final - peso inicial; Eficiência alimentar (EA)= (Ganho de peso(g)/Consumo de ração (g))/100; Taxa de Crescimento Específico (TCE)=(ln peso final-ln peso inicial)/ tempo de experimento)x100; Índice Viscerosomático (IVS)=( peso das vísceras/peso corporal)x100; Índice Hepatosomático=( peso do fígado/ peso corporal) x100 e Gordura Visceral (IGV): (peso da gordura/peso do peixe) x100.

## 2.2 Análise centesimal

A composição corporal foi determinada com cinco peixes inteiro para cada tratamento. Foi realizada a pré-secagem das amostras em temperatura de 55° C durante 72 horas em estufa com ventilação forçada. Após a secagem, passaram por uma moagem em moinho, com objetivo de determinar a umidade, extrato etéreo, proteína bruta e cinza, segundo a Association of Official Analytical Chemists, AOAC (1995) e para a determinação dos carboidratos foi utilizado cálculo segundo SILVA & QUEIROZ (2002): %CHO = 100 - % U - %EE - %PB - %cinzas.

## 2.3 Coleta das amostras biológicas

Ao final do período experimental os peixes foram anestesiados com Eugenol diluído na água (100 mg L<sup>-1</sup>) para as coletas de amostras de sangue dos peixes dos diferentes tratamentos, utilizando seringas de 1,0 mL banhadas com anticoagulante EDTA (3,0%). O sangue coletado por meio de punção caudal foi armazenado em eppendorf

individual e duas lâminas por indivíduos foram empregadas para confecção do esfregaço do sangue para posteriores análises. Posteriormente foram mensurados o comprimento total e o peso total com uma trena métrica e uma balança de precisão (0,001g), em seguida foram retirados o intestino, fígado e a gordura visceral com materiais cirúrgicos (tesoura, pinça e bisturi), sendo os órgãos de cada peixe colocados em placa de Petri para serem mensurados o peso e comprimento para avaliação dos índices somáticos.

Para análise histológica os órgãos (intestino e fígado) foram conservados em Alfac durante 24 horas e depois transferida para o álcool 70 até o momento do processamento histológico.

#### **2.4 Análises Hematológicas**

A contagem do número de eritrócitos foi realizada em câmara de Neubauer pelo método de hemocitômetro, utilizando-se o líquido de Hayem (1:200) em pipeta automática, sendo os valores obtidos empregados para o cálculo do número total de leucócitos.

Para contagem diferencial e total dos leucócitos foram confeccionadas duas lâminas por peixe de cada tratamento, realizado o esfregaço do sangue e posteriormente coradas com corantes hematológicos com May-Grünwald Giemsa. A contagem foi realizada utilizando microscópio com aumento de 100 vezes e percorrendo toda extensão da lâmina em movimento de “zig-zag” conforme descrito por Tavares-Dias e Moraes (2004). Para determinação da contagem diferencial foram contadas 200 células, estabelecendo-se o percentual de linfócitos, neutrófilos e monócitos. Na contagem total foram contadas 2000 células observando o número de leucócitos. Posteriormente, foi realizado a análise bioquímica plasmática da glicose ( $\text{mg. dL}^{-1}$ ). As amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm por cinco minutos e depois foram conservadas em um freezer, para posteriormente ser analisado com o uso de “kit de glicose” específicos (Gold Analisa Diagnóstica Ltda, Belo Horizonte – Minas Gerais, Brasil) através do método Enzimático-colorimétrico, conforme as instruções do fabricante, sendo a leitura feita em um espectrofotômetro.

#### **2.5 Análises Histológicas**

Os intestinos e fígados foram preparados no Laboratório de histologia da UNIOESTE/Campus Toledo/Pr. Amostras do intestino médio e do fígado dos peixes foram coletadas de cada unidade experimental. As amostras foram desidratadas em série ascendente de álcool (70%, 80%, 90%, 100 I %, 100% II, 100% III), diafanizadas em

xilol, e colocadas em parafina histológica, para a obtenção de cortes histológicos semiseriados de 7µm.

Para coloração das lâminas do intestino e fígado foram preparadas uma lâmina por animal, sendo corada com Hematoxilina Eosina (HE), para a análise da morfologia das vilosidades e histomorfometria dos núcleos dos hepatócitos.

As análises dos cortes histológicos foram realizadas em Microscópio óptico (P1 *Olympus* BX 50, Manila, Filipinas), acoplado a câmera BEL Capture, utilizando as objetivas de 40X e 100X para as capturas de imagens dos cortes de intestino e fígado respectivamente. Um sistema de análises de imagens Eureka 3.0 Plus foi utilizado para mensuração dos vilos e dos núcleos dos hepatócitos.

A histomorfometria foi realizada a partir de cinco imagens capturadas aleatoriamente com ampliação de 1000x. A área (µm<sup>2</sup>), perímetro (µm), e o diâmetro (µm) dos núcleos dos hepatócitos foram mensuradas em 50 células aleatoriamente por peixe para cálculo das seguintes variáveis: volume do núcleo do hepatócito  $V_{nh} (\mu m^3) = 4/3 \pi \cdot r^3$ , onde r é o raio nuclear e circularidade dos núcleos de hepatócitos  $R_n(\mu m) = 4\pi$  (área nuclear) / perímetro nuclear<sup>2</sup>.

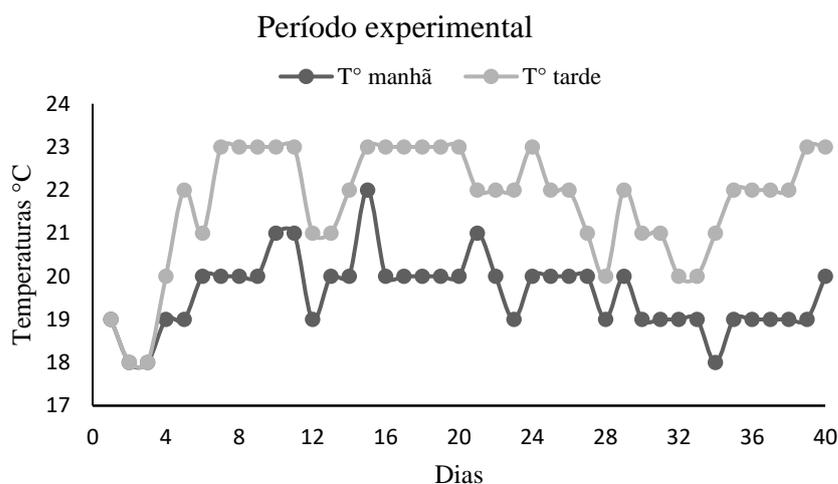
## 2.6 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade e, quando constatada distribuição normal, procedeu-se à análise de variância unifatorial (One-way ANOVA), e posteriormente ao teste de comparação de médias de Tukey. Para os dados que não seguiram distribuição normal, foram realizadas transformações, e quando a premissa da normalidade não pode ser atendida em todos os casos, aplicou-se a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. O nível de significância adotado nos testes foi de 5%.

Todos os resultados estão apresentados como média ± desvio e as análises foram realizadas utilizando-se o Software STATISTICA 7.0.

## 3 RESULTADOS

A temperatura da água apresentou variações ao longo do experimento e em relação ao período em que foi mensurada, manhã ou tarde (Figura 1), apresentando valores médios respectivamente de 19,6±0,8°C e de 21,3±1,5°C. Para as demais variáveis de qualidade de água as médias foram de: pH = 8,0±0,6; oxigênio dissolvido = 6,6±0,6 mgL<sup>-1</sup>; sólidos totais dissolvidos = 64,3±0,6 mg/L e a condutividade elétrica = 94,2±0,8 µS cm<sup>-1</sup>.



**Figura 1:** Variação da temperatura da água durante o período experimental.

Nas análises referentes ao desempenho zootécnico da tilápia-do-Nilo, não houve variação significativa no peso médio final, ganho de peso e comprimento intestinal entre tratamentos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2).

Para a sobrevivência não houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). A eficiência alimentar também não diferiu para os três tratamentos ( $p > 0,05$ ). A taxa de crescimento específico não sofreu influência dos tratamentos aplicados ( $p > 0,05$ ). O índice viscerossomático foi maior nos peixes que não receberam probióticos e menor nos peixes que consumiram ração com probiótico, porém sem evidência de efeito significativo ( $p > 0,05$ ). Para o índice hepatossomático, este também foi maior para os peixes que não receberam probióticos, entretanto sendo estatisticamente semelhantes ( $p > 0,05$ ) entre si (Tabela 2).

**Tabela 2:** Desempenho zootécnico da tilápia-do-Nilo submetida a probiótico na ração e na água em temperaturas sub-ótimas.

| Variáveis          | Tratamentos         |                     |                    | Valor-p |
|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------|
|                    | T0                  | T1                  | T2                 |         |
| PM INICIAL (g)     | 8,6±0,7             | 8,8±0,5             | 8,7±0,7            | 0,8     |
| PM FINAL (g)       | 17,3±5,2            | 19,6±5,7            | 23,4±6,0           | 0,2     |
| C. INTESTINAL (cm) | 41,8±8,7            | 35,1±5,4            | 37,9±11,3          | 0,4     |
| SO (%)             | 41,6±27,3<br>(33,3) | 25,0±17,4<br>(25,0) | 13,8±6,8<br>(16,6) | 0,1     |
| GP(g)              | 8,7±5,7             | 10,8±5,8            | 14,6±5,4           | 0,2     |
| CA(g)              | 5,2±4,9             | 4,0±2,1             | 6,1±3,0            | 0,6     |
| EA                 | 0,13±0,07           | 0,19±0,1            | 0,19±0,08          | 0,4     |
| TCE (%)            | 1,6±0,8             | 1,9±0,7             | 2,4±0,5            | 0,2     |
| IVS (%)            | 3,7±2,2             | 2,7±0,9             | 2,5±1,5            | 0,4     |
| IHS (%)            | 2,2±0,6             | 1,9±0,4             | 1,6±0,6            | 0,2     |
| IGV (%)            | 0,60±0,4            | 1,3±1,3             | 0,49±0,5           | 0,2     |

Valores apresentados como média ± desvio padrão para dados normalmente distribuídos e média ± desvio padrão (mediana) para dados não distribuídos normalmente. T0 = tratamento controle; T1 = adição de probiótico na água; T2 = adição de probiótico na ração.

Na composição centesimal observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) das carcaças dos peixes na umidade, extrato etéreo e matéria mineral entre os tratamentos. Por outro lado, a porcentagem de proteína bruta e carboidrato não revelou nenhum efeito significativo ( $p > 0,05$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3:** Composição corporal da tilápia-do-Nilo durante 40 dias de experimento com aplicação de probiótico.

| Variáveis           | Inicial     | Tratamento             |                        |                        | Valor-p |
|---------------------|-------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------|
|                     |             | T0                     | T1                     | T2                     |         |
| Umidade (%)         | 74,08± 0,01 | 75,05±0,01<br>(75,05c) | 74,04±0,01<br>(74,04b) | 73,83±0,04<br>(73,83a) | 0,02    |
| Proteína bruta (%)  | 14,19±0,21  | 14,27±0,19             | 14,89±0,18             | 14,33±0,35             | 0,09    |
| Extrato etéreo (%)  | 5,33±0,13   | 4,32±0,09<br>(4,30a)   | 4,52±0,02<br>(4,53b)   | 4,17±0,10<br>(4,18a)   | 0,03    |
| Matéria mineral (%) | 4,58±0,01   | 4,48±0,03<br>(4,49b)   | 4,72±0,05<br>(4,73a)   | 4,79±0,04<br>(4,80a)   | 0,03    |
| Carboidratos (%)    | 1,80±0,27   | 1,86±0,22<br>(1,80)    | 1,81±0,17<br>(1,88)    | 2,86±0,43<br>(3,03)    | 0,06    |

Valores apresentados como média ± desvio padrão para dados normalmente distribuídos e média ± desvio padrão (mediana) para dados não distribuídos normalmente. T0 = tra-

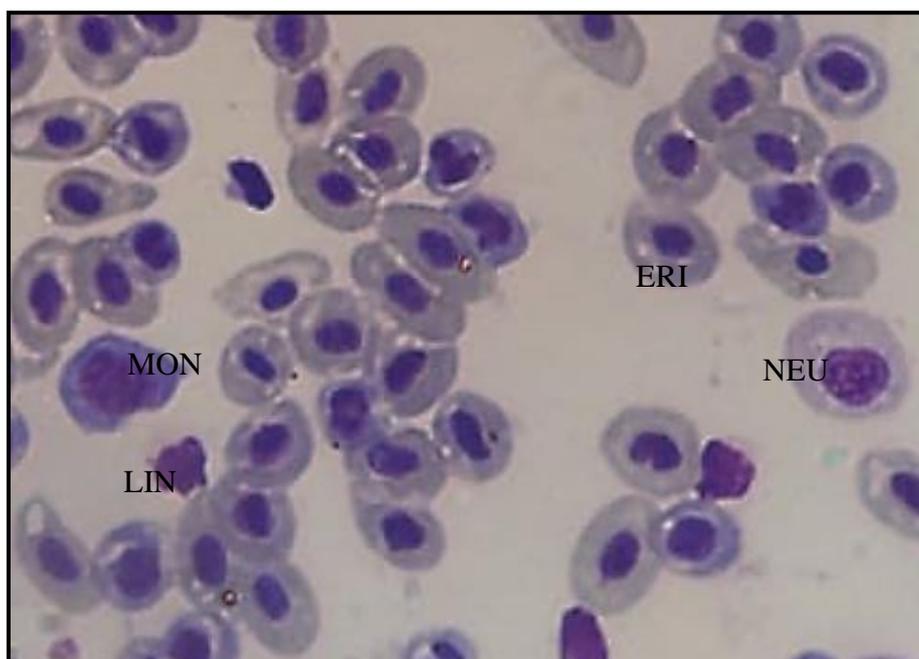
tamento controle; T1 = adição de probiótico na água; T2 = adição de probiótico na ração.

Com relação aos parâmetros hematológicos, verificou-se efeitos significativos para o número de leucócitos e linfócitos. A análise de variância evidenciou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para os peixes que receberam probióticos na ração (T2) e para os que não receberam (T0), sendo constatada redução nos valores comparativamente ao tratamento controle. Nenhum efeito foi verificado no número de neutrófilos e monócitos, após os 40 dias de experimento, bem como na concentração de glicose ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4 e Figura 1).

**Tabela 4:** Parâmetros hematológicos da tilápia-do-Nilo submetida a probiótico na ração e na água em temperatura sub-ótimas.

| Variáveis                         | Tratamento          |                     |                    | Valor-p |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------|
|                                   | T0                  | T1                  | T2                 |         |
| Leucócitos( $\mu\text{L}^{-1}$ )  | 83539 $\pm$ 37600 b | 55539 $\pm$ 32961ab | 52621 $\pm$ 20492a | 0,04    |
| Linfócitos ( $\mu\text{L}^{-1}$ ) | 75403 $\pm$ 34815 b | 48427 $\pm$ 32341ab | 49540 $\pm$ 21015a | 0,03    |
| Monócitos ( $\mu\text{L}^{-1}$ )  | 4345 $\pm$ 4298     | 5770 $\pm$ 2576     | 1621 $\pm$ 1286    | 0,05    |
| Neutrófilos( $\mu\text{L}^{-1}$ ) | 3791 $\pm$ 3614     | 1341 $\pm$ 766      | 1458 $\pm$ 826     | 0,18    |
| Glicose (mg/dL)                   | 93,1 $\pm$ 24,8     | 73,7 $\pm$ 7,4      | 117,1 $\pm$ 41,6   | 0,27    |

Dados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão para dados normalmente distribuídos. T0 = tratamento controle; T1 = adição de probiótico na água; T2 = adição de probiótico na ração.



**Figura 1:** Identificação das células sanguíneas da tilápia-do-Nilo: Mon- monócitos, Neu- neutrófilos, LIN- linfócitos e ERI- eritrócitos.

A mensuração histomorfométrica do intestino mostrou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na altura dos vilos e na espessura da túnica nos grupos T1 e T2 em relação ao controle T0. Contudo, não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) na largura dos vilos entre os grupos tratamentos (Tabela 5 e Figura 2).

**Tabela 5:** Morfometria intestinal da tilápia-do-Nilo submetida a probiótico na ração e na água em temperaturas sub-ótimas.

| Variáveis                            | Inicial           | Tratamentos                     |                                 |                                 | valor-p |
|--------------------------------------|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------|
|                                      |                   | T0                              | T1                              | T2                              |         |
| Altura dos vilos( $\mu\text{m}$ )    | 80,58 $\pm$ 22,70 | 144,75 $\pm$ 36,15<br>(139,46b) | 236,39 $\pm$ 42,08<br>(235,35a) | 224,62 $\pm$ 71,87<br>(222,80a) | 0,00    |
| Largura dos vilos ( $\mu\text{m}$ )  | 52,38 $\pm$ 12,21 | 85,31 $\pm$ 18,92               | 88,64 $\pm$ 8,04                | 81,07 $\pm$ 16,88               | 0,49    |
| Espessura da túnica( $\mu\text{m}$ ) | 22,40 $\pm$ 9,18  | 17,46 $\pm$ 3,56<br>(16,67b)    | 25,56 $\pm$ 6,79<br>(26,53a)    | 27,49 $\pm$ 8,07<br>(27,75a)    | 0,00    |

Valores apresentados como média  $\pm$  desvio padrão para dados normalmente distribuídos e média  $\pm$  desvio padrão (mediana) para dados não distribuídos normalmente. T0 = tratamento controle; T1 = adição de probiótico na água; T2 = adição de probiótico na ração.



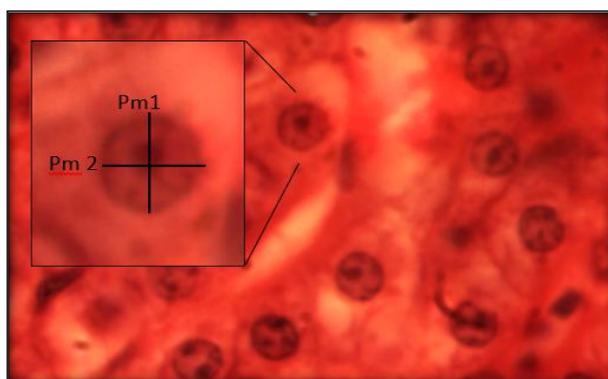
**Figura 2:** Morfologia dos vilos da tilápia-do-Nilo: AV- altura do vilos, LV-largura do vilos e ET- espessura da túnica.

As variáveis histomorfométricas dos núcleos dos hepatócitos são apresentados na Tabela 6 e Figura 3. A área ( $\mu\text{m}^2$ ), perímetro ( $\mu\text{m}$ ) e volume ( $\mu\text{m}^3$ ) dos núcleos dos hepatócitos apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. E a circularidade dos núcleos não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 6:** Característica morfométrica dos núcleos dos hepatócitos de tilápia-do-Nilo submetida a probiótico na ração e na água em temperatura sub-ótima.

| Variáveis                            | Inicial         | Tratamentos                  |                               |                              | valor-p |
|--------------------------------------|-----------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------|
|                                      |                 | T0                           | T1                            | T2                           |         |
| Perímetro do Núcleo( $\mu\text{m}$ ) | 4,97 $\pm$ 0,31 | 10,49 $\pm$ 0,44<br>(10,46a) | 10,54 $\pm$ 0,49<br>(10,55a)  | 9,85 $\pm$ 0,39<br>(9,81b)   | 0,00    |
| Área do Núcleo ( $\mu\text{m}^2$ )   | 6,08 $\pm$ 0,66 | 27,07 $\pm$ 2,68<br>(27,42a) | 27,65 $\pm$ 3,18<br>(27,82a)  | 24,06 $\pm$ 2,47<br>(24,10b) | 0,00    |
| Volume do núcleo ( $\mu\text{m}^3$ ) | 7,92 $\pm$ 1,27 | 76,07 $\pm$ 9,63<br>(74,97a) | 77,07 $\pm$ 10,56<br>(76,92a) | 62,96 $\pm$ 7,72<br>(61,89b) | 0,00    |
| Circularidade do Núcleo              | 3,08 $\pm$ 0,21 | 3,09 $\pm$ 0,27              | 3,11 $\pm$ 0,17               | 3,10 $\pm$ 0,17              | 0,90    |

Valores apresentados como média  $\pm$  desvio padrão para dados normalmente distribuídos e média  $\pm$  desvio padrão (mediana) para dados não distribuídos normalmente. T0 = tratamento controle; T1 = adição de probiótico na água; T2 = adição de probiótico na ração.



**Figura 3:** Morfometria dos núcleos dos hepatócitos: Pm1- perímetro 1 e Pm 2- perímetro 2.

#### 4 DISCUSSÃO

As variáveis da qualidade de água foram monitoradas diariamente durante o período experimental, onde os teores de oxigênio dissolvido ficaram acima de 4 mg L<sup>-1</sup>, sendo adequados para criação dos peixes, os valores de pH ficaram próximos ao neutro, os sólidos totais dissolvidos e a condutividade elétrica ficaram dentro dos níveis recomendados para criação de peixes (POPMA e LOVSHIN, 1996; KUBITZA, 2000; ZIMMERMANN e HASPER, 2003). Já a temperatura manteve-se abaixo do recomendado para um crescimento satisfatório da tilápia-do-Nilo, que é entre 27° a 30°C o ideal para espécie (EL- SAYED, 2006). No final do experimento não foram identificadas

anomalias morfológicas nos peixes que foram submetidas a probiótico na água e na ração.

Neste trabalho, o uso de probióticos na água e na ração não influenciou no desempenho produtivo dos peixes em baixas temperaturas. Portanto, os peixes apresentaram um crescimento reduzido nos três tratamentos durante o experimento devido à baixa temperatura de  $19,6\pm 0,8^{\circ}\text{C}$  (período da manhã) e  $21,6\pm 1,3^{\circ}\text{C}$  (período da tarde). Segundo SARDELLA *et al.* (2004) a temperatura abaixo do ideal pode causar distúrbios osmorregulatórios e mudanças fisiológicas. Além disso, o surgimento de doença e aumento da mortalidade (ZHOU *et al.* 2018). De modo semelhante OSHIRO (2015) utilizando probiótico na dieta de juvenis de tilápia-do-Nilo também não observou efeitos sobre o ganho de peso e taxa de crescimento específico e NAKANDAKARE (2010) não teve diferenças significativas quanto a sobrevivência e ganho de peso após fornecer probiótico durante 63 dias para juvenis de tilápia-do-Nilo.

Além do menor crescimento, a redução da temperatura também tem efeitos sobre o consumo de ração (SARDELLA *et al.*, 2004) e, conseqüentemente, na eficiência alimentar. Portanto, neste estudo a eficiência alimentar constatada pode ter relação com o baixo consumo devido a temperatura não ser ideal para tilápia-do-Nilo, impactando sobre as taxas de sobrevivência. Em outros estudos foi constatado esses efeitos (ARAUJO *et al.*, 2011; ZHOU *et al.*, 2018). CORRÊA *et al.* (2017) também observou a redução na alimentação, ganho de peso e sobrevivência da tilápia-do-Nilo em temperaturas abaixo do ideal.

De acordo com este trabalho o uso de probiótico na água e na ração em temperaturas sub-ótimas não teve uma ação positiva na criação de juvenis de tilápia-do-Nilo, sendo que a espécie não se alimenta de forma adequada e não cresce em temperatura abaixo do ideal. Já para trabalhos com trutas (MERRIFIELD *et al.*, 2010; BAGHERI, 2008; AZARI *et al.*, 2011) verificou-se que o uso de probiótico para esta espécie de água fria, resultou em um bom crescimento e sobrevivência, além de melhorar o bem-estar dos peixes.

Neste trabalho observou-se diferenças na composição da carcaça entre os tratamentos, o que provavelmente pode estar relacionado à possíveis alterações nas taxas metabólicas ocorridas durante o experimento, impactando sobre os teores de umidade, extrato etéreo e cinza. VOLKOFF e BUTT (2019) citam que a microbiota intestinal influencia no metabolismo dos peixes, alterando a ingestão e a digestibilidade dos nutrientes. No trabalho de SILVA (2014), o qual avaliou diferentes concentrações de probió-

tico na ração para tilápia-do-Nilo, não foram observadas diferenças para umidade, extrato etéreo, proteína e cinza, mas para DE FREITAS (2015) em seu experimento também com tilápia-do-Nilo, porém estudando os efeitos da proteína da dieta e diferentes condições de estresses encontrou diferença em umidade e proteína. Portanto, SEKIROV e FINLAY (2009) e VOLKOFF e BUTT (2019) comentam que o estresse pode alterar a estrutura da mucosa intestinal e induzir alterações no muco intestinal, afetando a absorção dos nutrientes. Dessa forma, é provável que no presente estudo as alterações ocorridas na deposição das cinzas e lipídeos e, conseqüentemente na umidade, podem estar relacionados aos efeitos de modulação da microbiota e/ou na atividade de enzimas intestinais pelo probiótico, resultando em maior acúmulo comparativamente ao tratamento que não recebeu probiótico. Contudo, tais efeitos podem não ter sido suficientes para determinar alterações significativas no desempenho.

Durante o trabalho o efeito da temperatura nos peixes causou alterações na contagem de leucócitos e linfócitos. ARAÚJO *et al.* (2011) também observaram a ocorrência da redução comparado ao controle. FALCON *et al.* (2008), JUNIOR *et al.* (2010), SIGNOR *et al.* (2010) e DE FREITAS (2015) citam em seus trabalhos essas reduções que são chamadas de leucopenia e linfopenia. Neste trabalho ocorreram nos peixes que receberam os tratamentos com probióticos, DE FREITAS (2015) cita que é uma resposta comum do estresse, a redução do número de linfócitos e por conseqüência elevando a redução dos leucócitos.

DE FREITAS (2015) em seu experimento, observou que após a tilápia-do-Nilo sofrer estresse a baixas temperaturas ocorreu leucopenia, linfopenia e neutrofilia nos seus tratamentos. Porém, de acordo HRUBEC *et al.* (2000) os valores encontrados nas contagens hematológicas estão dentro do padrão determinado para a tilápia-do-Nilo.

Os elevados valores de glicose no sangue representam uma função do organismo do animal de se restaurar durante situações críticas, e os maiores valores observados neste estudo foram obtidos para o tratamento controle e com aplicação de probiótico na ração, embora não significativo. DE FREITAS (2015) também observou o aumento de glicose em peixes que sofreram estresse em baixas temperaturas. No entanto para ATWOOD *et al.* (2003) e SOMERO (2004) este aumento na concentração de glicose é uma forma de aumentar as atividades enzimáticas, que é induzida por produção de enzimas.

Em relação a análise do intestino, também foram observados o aumento da altura dos vilos, largura e espessura da túnica, resultando em uma maior área de absorção e

maior disponibilidade de nutrientes para as células. SILVA (2014), REDA e SELIM (2015) encontraram resultados semelhantes ao adicionarem probiótico em ração comercial para tilápia-do-Nilo cultivada em tanque-rede. Segundo JESUS (2014), o aumento da morfometria intestinal pode estar relacionado à capacidade dos probióticos em diminuir a adesão de bactérias patogênicas no epitélio intestinal.

A aplicação de probiótico diretamente na água teve maior influência na morfologia intestinal da tilápia-do-Nilo. WANG *et al.* (2017) avaliaram os efeitos de *B.cereus* adicionado na água e na ração e observaram melhoras no estado imunológico dos peixes. MELLO *et al.* (2013) ao adicionarem probiótico na ração, observaram aumento na estrutura das vilosidades, que levou a uma melhor absorção e retenção de nutrientes, além de aumento no desempenho zootécnico e composição corporal. Desse modo, pode-se sugerir para este estudo que a ação positiva do probiótico sobre a modulação da microbiota e consequente melhor absorção de nutrientes pode ser pronunciada em condições de baixa temperatura, porém não determinando em melhoras no crescimento.

Em estudos com outras espécies de peixes, tais como linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*) (YE *et al.*, 2011), Zebrafish (SEMOVA *et al.*, 2012), carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) (NI *et al.*, 2014), foram observadas mudanças na morfometria intestinal e também na composição da microbiota intestinal. VOLKOFF e BUTT (2019), estes efeitos favorecem melhoras na saúde dos peixes através da manipulação da microbiota intestinal.

As análises das medidas histomorfométricas da área dos núcleos dos hepatócitos são usados como biomarcadores para observar o estado e atividade metabólica das células (RODRIGUES *et al.*, 2017). No presente trabalho, a área do núcleo dos hepatócitos dos peixes antes do início do experimento foi menor em relação aos peixes que foram submetidos ao experimento, que tiveram uma maior área do núcleo. Essas alterações são devidas ao manejo nutricional (RODRIGUES *et al.*, 2017).

No estudo CAVALIER SMITH (1982) e NEUMANN e NURSE (2007) sobre o tamanho dos núcleos dos hepatócitos, eles citam que este parâmetro pode estar relacionado a quantidade de DNA, que se ajusta proporcionalmente ao tamanho da célula. Porém no trabalho de WEBSTER *et al.* (2009), citam que as proteínas citoplasmáticas e algumas proteínas nucleares regulam o tamanho do núcleo em comparação ao tamanho da célula. Além disso, OSTASZEWSKA *et al.* (2011) falam que em ótimas condições nutricionais, o fígado vai armazenar boas quantidade de glicogênios ou lipídios no citoplasma e isto reflete no tamanho da área e volume dos hepatócitos.

WOLD *et al.* (2009) relatam que peixes submetidos a estresses nutricionais sofrem redução no tamanho dos núcleos dos hepatócitos. RODRIGUES *et al.* (2017) em estudo com fígado em híbrido de surubim observaram que a alimentação inadequada reduziu o metabolismo dos hepatócitos e, por consequência, a área do núcleo. Neste estudo, para as medidas de perímetro, área e volume do núcleo verificou-se diferença significativa, sendo que os núcleos dos três tratamentos tiveram bom desenvolvimento celular, apesar do baixo consumo de ração.

## **5 CONCLUSÃO**

Nas conclusões do presente estudo, o uso de probiótico na água ou na ração durante 40 dias em condições sub-ótimas não determinaram efeitos sobre o desempenho zootécnico da tilápia-do-Nilo.

A análise da composição corporal foi importante para observar as diferenças na umidade, extrato etéreo e cinza entre os tratamentos.

Na hematologia o uso de probiótico adicionado na ração durante um período de baixa temperatura promoveu alterações no número de linfócitos e leucócitos.

Na histologia intestinal e do fígado foi possível observar que o uso do probiótico não promoveu diferença de crescimento, mas houve alterações na morfologia dos vilos (na altura e largura dos vilos) e diferentes respostas a nível metabólico que influenciaram a área e o volume do núcleo dos hepatócitos, que podem ser considerados indicadores do estado nutricional e contribuir para o bem-estar do animal.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As principais dificuldades no presente estudo foi efeitos da baixa temperatura, o estresse dos peixes, baixo consumo de ração que dificultou o crescimento dos peixes. Em virtude destas dificuldades é importante realizar um planejamento antes de executar o experimento. Além de verificar se o probiótico está registrado pela autoridade competente do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA).

O anexo 1 mostra uma relação de produtos remediadores registrado no Ibama, e que estão à venda no mercado. Observa-se que a maioria dos produtos contém o gênero *Bacillus* principalmente a espécie *B. subtilis*, sendo a espécie mais utilizada pelos fabricantes, além de vários artigos falando da importância do *B. subtilis*.

Com este estudo e com base nas revisões bibliográfica definiu-se o uso de probiótico diretamente na água, pois com esta forma de administração obteve-se uma melhor ação no organismo dos peixes. Estes resultados poderão contribuir com pesquisas futuras relacionadas a função do probiótico no organismo dos peixes e sua importância para piscicultura, visando melhor desempenho produtivo e bem-estar animal. Porém, ainda não se tem uma composição ideal de bactérias no mercado. Devido a isto, deve-se estudar quais as bactérias mais importantes para criação de peixes e avaliar se é viável ou não utilizar esse produto em situações de baixa temperatura.

Para trabalhos futuros é importante algumas sugestões de recomendações:

- Realizar análise bacteriológica do intestino e da água;
- Avaliar em tratamento de efluente de piscicultura para diminuição da quantidade de fósforo, amônia, nitrito e nitrato;
- Também é importante avaliar os efeitos sobre a digestibilidade dos nutrientes da dieta para as duas formas de aplicação, além de fazer um estudo comparativo entre condições ideais de criação e em condições de baixa temperatura;
- Avaliar a retenção de nutrientes (taxa de eficiência proteica, retenção de lipídeos e energia) na carcaça visto que o probiótico demonstrou aumentar a absorção, realizar estudos com maior número de animais por repetição e maior número de repetições;
- Avaliar a qualidade de água para as duas formas de administração avaliadas (na água e na ração), além de fazer análise do perfil bioquímico do sangue (colesterol, albumina, proteínas totais, triglicérides);
- Verificar se causa efeito no meio ambiente nas duas formas de administração (na água e na ração);
- E determinar qual o complexo de bactérias ideal para a criação de peixe;

Este estudo assume relevância do ponto de vista prático, pois poderá fornecer subsídios para o desenvolvimento de novas pesquisas relacionadas a cadeia produtiva de tilápia-do-Nilo e bem-estar do animal.

## 7 REFERÊNCIAS

- AMARANTE, J. F.; KOLLING, L. FERRONATO, A. I.; VARGAS, A. C.; COSTA, M. M.; AMARANTE, T. A. B. 2018 Resistência aos antimicrobianos de bactérias obtidas de carpas (*Cyprinus carpio*) cultivadas em sistema semi-intensivo. *Ciência Animal Brasileira*, 19(1): 1-7. (<http://dx.doi.org/10.1590/1809-6891v19e-34647>)
- ARAUJO, D. DE M.; PEZZATO, A. C.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; NAKAGOME, F. K. 2011 Hematologia de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(3): 294-302.
- ATWOOD, H. L.; TOMASSO, J. R.; WEBB, K.; GATLIN III, D. M. 2003. Low-temperature tolerance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: effects of environmental and dietary factors. *Aquaculture Research*, 34(3), 241-251. (<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00811.x>)
- AZARI, A. H.; HASHIM, R.; AZARI TAKAMI, G.; FARABI, S. M. V.; DARVISH, M.; SAFARI, R. 2011 Effect of (GroBiotic®-A) on the growth performance and intestinal microflora on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Journal of Research in Biology*, 1: 325-34.
- BAGHERI, T.; HEDAYATI, S. A.; YAVARI, V.; ALIZADE, M.; FARZANFAR, A. 2008 Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8(1): 43-48.
- BLAXTER, K. L. 1989. Energy metabolism in animals and man. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 336p.
- CAVALIER-SMITH, T. 1982 Skeletal DNA and the evolution of genome size. *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*, 11(1):273-302.
- CORRÊA, C. F.; NOBREGA, R. O.; MATTIONI, B.; BLOCK, J. M.; FRACALLOSSI, D. M. 2017 Dietary lipid sources affect the performance of Nile tilapia at optimal and cold, suboptimal temperatures. *Aquaculture Nutrition*, 23(5):1016-1026. (<https://doi.org/10.1111/anu.12469>)
- DE FREITAS, J. M. A. 2015 Desempenho produtivo e respostas hematológicas da tilápia-do-Nilo submetida a diferentes níveis de proteína e condições de estresse. 112p. (Tese de Doutorado. Departamento Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, UNESP). Disponível em:<  
<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/126635>> Acesso em 19 de março de 2019.

- EL-SAAYYED, E. M. 2006 Tilapia culture. CABI publishing. CABI International, Wallingford, Oxford shire, UK. 277 p.
- FALCON, D. R.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; SOLARTE, W. V. N.; GUIMARÃES, I. G. 2008 Leucograma da tilápia-do-Nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis de vitamina C e lipídeos submetidos a estresse por baixa temperatura. *Ciência Animal Brasileira*, 9(3): 543-551.
- HENRIKSSON, P. J. G.; BELTON, B.; MURSHED-E-JAHAN, K.; RICO, A. 2018 Measuring the potential for sustainable intensification of aquaculture in Bangladesh using life cycle assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 115(12): 2958-2963. (<https://doi.org/10.1073/pnas.1716530115>)
- HRUBEC, T. C.; CARDINALE, J. L.; SMITH, S. A. 2000 Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary clinical pathology*, 29(1): 7-12. (<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2000.tb00389.x>)
- IBRAHEM, M. D. 2015 Evolution of probiotics in aquatic world: potential effects, the current status in Egypt and recent prospectives. *Journal of advanced research*, 6(6): 765-791. (<https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.12.004>)
- JAHANGIRI, L.; ESTEBAN, M. 2018 Administration of Probiotics in the Water in Finfish Aquaculture Systems: A Review. *Fishes*, 3(3): 33. (<https://doi.org/10.3390/fishes3030033>)
- JATOBÁ, A.; VIEIRA, F. DO N.; NETO, C. B.; SILVA, B. C.; MOURIÑO, J. L. P.; JERÔNIMO, G. T.; MARTINS, M. L. 2008 Utilização de bactérias ácido-lácticas isoladas do trato intestinal de tilápia-do-Nilo como probiótico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(9):1201-1207.
- JESUS, G. F. A. 2014 *Weissella cibaria* e sua ação probiótica no trato intestinal de surubins híbridos. 90f. (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC). Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/129543> Acesso em 19 de março de 2019.
- JUNIOR, F.; CALVO, A.; PEZZATO, L. E.; GUIMARÃES, I. G.; TEIXEIRA, C. P.; KOCH, J. F. A.; BARROS, M. M. 2010 Resposta hemática de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com colina e submetidas a estímulo por baixa temperatura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(8):1619-1625. (<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000800001>)
- KHATI, A.; CHAUHAN, R. S.; NAZIR, I.; ARYA, P. 2018 Improved fish health: Key to successful aquaculture. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(2): 898-902.

- KUBITZA, F. 2000 Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial. 1ª. Edição, Jundiaí. 285p.
- MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E. M. (1977). Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Transactions of the American Fisheries Society*, 106(3): 201-212. ([https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1977\)106<201:PASEOS>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1977)106<201:PASEOS>2.0.CO;2))
- MERRIFIELD, D. L., DIMITROGLOU, A., FOEY, A., DAVIES, S. J., BAKER, R. T., BOGWALD, J.; RINGO, E. 2010 The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302(1-2):1-18. (<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.02.007>)
- RODRIGUES, R. A.; SATURNINO, K. C.; FERNANDES, C. E. 2017 Liver histology and hi tomorphometry in hybrid sorubim (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pseudoplatystoma corruscans*) reared on intensive fish farming. *Aquaculture Research*, 48(9), 5083-5093. (<https://doi.org/10.1111/are.13325>)
- NAKANDAKARE, I.B. (2010) Inclusão de probiótico no processamento de ração para tilápias-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, variedade Gift.63f. (Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesca). Disponível em <<https://www.pesca.sp.gov.br/pos-graduacao/dissertacoes-defendidas/category/9-ano-2010>> Acesso em 19 de março de 2019.
- NAKANDAKARE, I. B.; IWASHITA, M. K. P.; DIAS, D. D. C.; TACHIBANA, L.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ROMAGOSA, E. 2013 Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilápias-do-Nilo: parâmetros hematológicos, imunológicos e microbiológicos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 39(20): 121-135.
- NEUMANN, F. R.; NURSE, P. 2007 Nuclear size control in fission yeast. *The Journal of Cell Biology*, 179(4), 593–600. (DOI: 10.1083 / jcb.200708054)
- NOFFS, A. P.; TACHIBANA, L.; SANTOS, A. A.; RANZANI-PAIVA, M. J. T. 2015 Common snook fed in alternate and continuous regimens with diet supplemented with *Bacillus subtilis* probiotic. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 50(4): 267-272. (<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2015000400001>)
- NI, J.; YAN, Q.; YU, Y.; ZHANG, T. 2014 Factors influencing the grass carp gut microbiome and its effect on metabolism. *FEMS Microbiology Ecology*, 87(3), 704-714. (<https://doi.org/10.1111/1574-6941.12256>)
- OSHIRO, E. (2015). Prebiótico e probiótico na dieta de tilápia-do-Nilo: perfil hematológico, resposta imune inata e desempenho zootécnico. 40f. (Dissertação de Mestrado.

Centro de Aquicultura da UNESP-CAUNESP) Disponível em:<  
<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/143008>> Acesso em 19 de março de 2019.

POPMA, T.L.; LOVSHIN, L.L. (1996). World wide prospects for commercial production of tilapia. *Research and Development Series*, 41: 1-23. <http://hdl.handle.net/11200/4157>)

REBOUÇAS, P. M.; LIMA, L. R.; DIAS, I. F.; BARBOSA FILHO, J. A. D. 2014 Influência da oscilação térmica na água da piscicultura. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*,2(2): 35-42. (<http://dx.doi.org/10.14269/2318-1265.v02n02a01>)

REDA, R.; SELIM, K., 2015. Evaluation of *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth performance, intestinal morphology, hematology and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture International*,21(1): 203-217. (DOI 10.1007/s10499-014-9809-z)

SARDELLA, B. A.; COOPER, J.; GONZALEZ, R. J.; BRAUNER, C. J. 2004 The effect of temperature on juvenile Mozambique tilapia hybrids (*Oreochromis mossambicus* x *O. urolepis hornorum*) exposed to full-strength and hypersaline seawater. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 137(4): 621-629. (<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2003.12.003>)

SEKIROV, I.; FINLAY, B. B. 2009 The role of the intestinal microbiota in enteric infection. *The Journal of physiology*, 587(17): 4159-4167. (<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.172742>)

SEMOVA, I.; CARTEN, J. D.; STOMBAUGH, J.; MACKKEY, L. C.; KNIGHT, R.; FARBER, S. A.; RAWLS, J. F. 2012 Microbiota regulate intestinal absorption and metabolism of fatty acids in the zebrafish. *Cell host & microbe*, 12(3), 277-288. (<https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.08.003>)

SILVA, T. F. A. 2014 Efeito probiótico do *Bacillus amyloliquefaciens* no desempenho produtivo e nos parâmetros hematológicos, morfométricos e ultraestruturais do intestino de tilápias-do-Nilo cultivadas em tanque-rede. 36f. (Dissertação de Mestrado. Centro de Aquicultura da UNESP-CAUNESP). Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/131971> Acesso em: 19 de março de 2019.

SIGNOR, A.; PEZZATO, L. E.; FALCON, D. R.; GUIMARÃES, I. G.; BARROS, M. M. 2010. Parâmetros hemetológicos da tilápia-do-Nilo: efeito da dieta suplementada com levedura e zinco e do estímulo pelo frio. *Ciência Animal Brasileira*,11(3):509-519. (<https://DOI:10.5216/cab.v11i3.6016>)

- SOMERO, G. N. 2004. Adaptation of enzymes to temperature: searching for basic “strategies”. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 139(3), 321-333. ([http:// doi:10.1016/j.cbpc.2004.05.003](http://doi:10.1016/j.cbpc.2004.05.003))
- VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. 2000 Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Bioliology Reviews*, 64(4):655-671.
- VOLKOFF, H.; BUTT, R. L. 2019 Gut microbiota and energy homeostasis in fish. *Frontiers in Endocrinology*, 10: 9. (<https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00009>)
- WANG, M.; LIU, G.; LU, M.; KE, X.; LIU, Z.; GAO, F.; YU, D. 2017 Effect of *Bacillus cereus* as a water or feed additive on the gut microbiota and immunological parameters of Nile tilapia. *Aquaculture Research*, 48(6): 3163-3173. (<https://doi.org/10.1111/are.13146>)
- ZHOU, T.; GUI, L.; LIU, M.; LI, W.; HU, P.; DUARTE, D. F.; CHEN, L. 2018 Transcriptomic responses to low temperature stress in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & shellfish immunology*. 84: 1145-1156. (<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.023>)
- ZIMMERMANN, S.; HASPER, T. O. B. 2003 Piscicultura no Brasil: o processo de intensificação da tilapicultura. *Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia*, 40: 21-24.
- YE, J. D.; WANG, K.; LI, F. D.; SUN, Y. Z. 2011. Single or combined effects of fructo-and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture nutrition*, 17(4), 902-911. (<https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00863.x>)
- WOLD, P. A.; HOEHNE-REITAN, K.; CAHU, C. L.; INFANTE, J. Z.; RAINUZZO, J.; KJORSVIK, E. (2009). Comparison of dietary phospholipids and neutral lipids: Effects on gut, liver and pancreas histology in Atlantic cod (*Gadus morha* L.) larvae. *Aquaculture Nutrition*, 15(1), 73–84. (<https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00569.x>)
- WEBSTER, M.; WITKIN, K. L.; COHEN-FIX, O. 2009. Sizing up the nucleus: Nuclear shape, size and nuclear-envelope assembly. *Journal of Cell Science*, 122(10), 1477–1486. (<https://doi:10.1242/jcs.037333>)
- OSTASZEWSKA T.; DABROWSKI K.; KWASEK K.; VERRI T.; KAMASZEWSKI M., SLIWINSKI J.; NAPORA-RUTKOWSKI L. 2011 Effects of various diet formulations (experimental and commercial) on the morphology of the liver and intestine of

rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquaculture Research*, 42(12): 1796-1806. (<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02779.x>)

## 8 ANEXO 1

### Produtos remediadores registrados no Ibama

| EMPRESA  | PRODUTOS                | INDICAÇÃO DE USO  | IA  | NR         | VR       |
|--|-------------------------|---|---|------------|----------|
|  |                         |   |   |            |          |
| <b>AMBIEM INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA</b><br>Estrada de Maracaúbas, 52 –<br>Cajazeiras de Abrantes<br>42840-000 –<br>Camaçari/BA<br>CNPJ:<br>09.439.336/0001-20<br>Fone: (71) 3289-3471                | <b>EM• 1</b>            | Biorremediador para compostagem de resíduos orgânicos, em sistemas de tratamento de efluentes e recuperação de corpos d'água; em fossas sépticas, caixas de gordura e esgotos sanitários e na eliminação de maus odores, com a finalidade de recuperar o equilíbrio natural de ambientes contaminados por poluentes de natureza orgânica.   | <i>Lactobacillus casei</i><br>var.<br><i>ramnosus</i> ,<br><i>Lactobacillus acidophilus</i> e<br><i>Saccharomyces cerevisiae</i>                                      | 2277/13-15 | 02/08/20 |
| <b>ARGAL QUÍMICA INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA</b><br>Rua Major Carlo del Prete,<br>1596-1608 – Cerâmica<br>09530-001 – São Caetano do Sul/SP CNPJ:<br>59.274.431/0001-99<br><b>Fone: (11) 2171-3327</b> | <b>Protargal Bio 45</b> | Biorremediador para desobstrução de caixas de gordura e tubulações, limpeza de fossas sépticas, vasos sanitários, ralos e pias, digestão de sólidos de efluentes industriais, de frigoríficos e abatedouros avícolas, redução do volume de lodo residual em ETE, lagoas aeróbicas e anaeróbicas, degradação de compostos de amônia e estabilidade do sistema.   | <i>Bacillus subtilis</i> ,<br><i>Bacillus licheniformis</i> e<br><i>Bacillus pumilus</i> .  | 3869/16-05 | 27/04/20 |
| <b>BIOTECNAL LTDA</b><br>Rua Joaquim Piazza, 408<br>– Jardim Anápolis<br>85.905-470 –<br>Toledo/PR CNPJ:<br>09.274.180/0001-74<br>Fone: (45) 3378-1819   | <b>BAC TRAT</b>         | Biorremediador para tratar efluentes contendo resíduos orgânicos de origem animal e vegetal em estações de tratamento de efluentes industriais, estações de tratamento de esgotos sanitários, tubulações de esgotamento sanitário, estações elevatórias e estações de tratamento de efluentes de criação de animais, com o objetivo de recuperação de ambientes, restauração da funcionalidade de lagoas de tratamento de efluentes industriais e ETEs, desobstrução de dutos e tubulações, | <i>Bacillus subtilis</i> ,<br><i>Bacillus licheniformis</i> ,<br><i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ,<br><i>Bacillus cereus</i> e<br><i>Lactococcus lactis</i><br>ssp. | 1369/12-05 | 19/04/19 |



|   |  |   |  |              |          |
|---|--|---|--|--------------|----------|
| <b>ADITIVO B-350</b>  | Biorremediador para Estações de Tratamento de Efluentes de indústrias químicas e petroquímicas, para degradar matéria orgânica (hidrocarbonetos, fenóis, proteínas, açúcares). | <i>Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis e Bacillus megaterium</i>  | 5631/13-63   | 18/12/18     |          |
| <b>ADITIVO B-540</b>  | Biorremediador para Estações de Tratamento de Efluentes de esgotos sanitários, indústrias de bebidas, alimentos e curtumes, para degradar matéria orgânica.                    | <i>Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis e Bacillus megaterium</i>  | 488/13-13  | 16/10/18     |          |
| <b>ADITIVO B-570</b>  | Biorremediador para Estações de Tratamento de Efluentes de indústrias de papel e celulose, para degradar matéria orgânica.   | <i>Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis e Bacillus megaterium</i>  | 5629/13-94   | 02/12/18     |          |
| <b>BIOMA COMÉRCIO E EXPORTAÇÃO LTDA</b><br>Rua Almirante Pereira Guimarães, 369 – sala 3 – Bairro Pacaembu 01250-001 – São Paulo/SP CNPJ: 11.795.086/0001-02 Fone: (11) 3677-7500                                     | <b>BIOMA TRAT X</b>  | Biorremediador para efluentes compostos por resíduos orgânicos de origem animal e vegetal, tais como efluentes de frigoríficos, laticínios, indústrias de alimentos e de bebidas, para degradar materiais orgânicos (gordura, óleos, graxas, amidos e proteínas). | <i>Bacillus macerans, Bacillus licheniformis, Bacillus megaterium, Bacillus polymyxa e Bacillus subtilis</i> | 3045/12-84   | 16/08/21 |
| <b>BFU DO BRASIL SERVIÇOS AMBIENTAIS LTDA</b><br>Avenida Franklin Roosevelt, 115, sala 1201 Centro 20.021-120 – Rio de Janeiro/RJ<br><br>20.021-120 – Rio de Janeiro/RJ CNPJ: 02.103.236/0001-89 Fone: (21) 2277-4750 | <b>OS-200</b>  | Remediador físico-químico para solos contaminados por meio de tratamento com biopilhas e para tratamento de hidrocarbonetos e outros compostos orgânicos em ambientes terrestres e aquáticos.   | Extratos vegetais de <i>Laminaria angustata, Brassica oleracea e Ceratona siliqua</i>                        | 3798/2006-61 | 21/11/18 |
| <b>BRBAC PRODUTOS BIOLÓGICOS LTDA.</b><br>Rod. RST 287, km 100 – Linha Santa Cruz   | <b>BIOACT</b>  | Biorremediador para estações de tratamento de efluentes industriais e estações de tratamento de esgoto sanitário, saturados e ineficientes e redução de odores fétidos, atuando na biodegradação de proteínas,  | <i>Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus megaterium, Bacillus mycoides e</i>                                  | 1003/11-47   | 04/05/21 |

96.822-700 – Santa Cruz  
do Sul/RS CNPJ:  
12.123.926/0001-14  
Fone: (51) 3715-4678

lipídeos (óleos e graxas), celulose e amido provenientes de indústrias que gerem essa composição (como indústrias de produção/processamento de alimentos, agroindústrias), indústrias têxteis, indústrias de celulose e efluentes de esgoto sanitário.

*Geobacillus  
thermoglucosi  
dasius*

**CARE SYSTEMS  
SOLUÇÕES BIO-  
AMBIENTAIS LTDA**

Rua José Abdon Lasmar, 10 –  
Ouro Verde 37.200-000 –  
Lavras/MG  
CNPJ:  
13.212.412/0001-  
37 Fone: (35)  
3641-7153

**BYOSOL  
SWIFT**

Remediador físico-químico para estações de tratamento de efluentes líquidos com elevados teores de óleos e gorduras, efluentes de água residuária do processamento de café, resíduos agrícolas e melhoramento da compostagem de resíduos sólidos de cama de frango, suínos e bovinos e resíduos agrícolas (restos de culturas). Os contaminantes a serem biodegradados são os ácidos graxos, ácidos orgânicos, proteínas, ésteres e sulfatos, DBO e DQO.

Amilase, Celulase,  
Lipase, Pectinase  
e Protease

449/12-35

24/03/19

**DAYTEC  
BEN  
BAC**

Biorremediador para indústrias de produção, transporte, estocagem e refino de petróleo. É utilizado para controlar o acúmulo de substâncias asfálticas e derivadas do petróleo em tubulações de poços de produção, tubulações de transporte, tanques de estocagem e locais de refino de petróleo.

*Rhodospirillum  
rubrum,  
Cycloclasticus  
pugetti,  
Marinobacter  
hydrocarbonoclasti  
cus, Alcanivorax  
borkumensis e  
Neptunomonas  
naphthovorans.*

876/08-37

30/08/20

**DAYTEC  
PARA  
BAC**

Biorremediador para indústrias de produção, transporte, estocagem e refino de petróleo. É utilizado para controlar o acúmulo de substâncias asfálticas e derivadas do petróleo em tubulações de poços de produção, tubulações de transporte,

*Rhodospirillum  
rubrum, Oleyphilus  
messinensis,  
Marinobacter  
hydrocarbonoclasti*

877/2008-  
81

02/08/20

tanques de estocagem e locais de refino de petróleo.

*cus, Alcanivorax  
borkumensis e  
Roseobacter  
litoralis*

**DAYTEC & BIOTEC DO  
BRASIL PRODUTOS  
QUÍMICOS E  
BIOLÓGICOS LTDA**

Rua Cavour, 12 – Oswaldo  
Cruz 09.571-230 – São  
Caetano do Sul/SP CNPJ:  
08.883.863/0001-66  
Tel/Fax: (11) 4226-2214

**DAYTEC  
BIO LBC**

Biorremediador para estações e lagoas de tratamento de efluentes líquidos provenientes de indústrias de laticínios.

*Rhodospirillum  
rubrum,  
Zymomonas mobilis,  
Roseobacter  
litoralis,  
Lactobacillus  
plantarum e  
Aquaspirillum  
serpens*

4346/06-  
51

02/08/20

**DAYTEC BIO  
HC**

Biorremediador para estações e lagoas de tratamento de efluentes

*Rhodospirillum  
rubrum,*

4345/06-  
51

30/08/20

|  |  |  |            |          |
|--|--|--|------------|----------|
| <b>DAYTEC BIO<br/>PÓ 1000</b>          | Biorremediador para estações e lagoas de tratamento de efluentes líquidos provenientes de indústrias têxteis, químicas, farmacêuticas, petroquímicas, abatedouros de aves, bois e suínos. É utilizado também para degradar resíduos orgânicos, eliminar odor e lodo em fossas e caixas de gordura e estações de tratamento de efluente industrial. | <i>Rhodopseudomonas palustris</i> ,<br><i>Cellulophaga baltica</i> ,<br><i>Roseobacter litoralis</i> ,<br><i>Ancyclobacter aquaticus</i> e<br><i>Deinococcus radiodurans</i> | 4348/06-95 | 30/08/20 |
| <b>DAYTEC BIO<br/>LÍQUIDO<br/>1000</b> | Biorremediador para estações e lagoas de tratamento de efluentes líquidos provenientes indústrias têxteis, químicas, farmacêuticas, petroquímicas e abatedouros de aves, bois e suínos.  | <i>Rhodospirillum rubrum</i> ,<br><i>Zymomonas mobilis</i> ,<br><i>Roseobacter litoralis</i> ,<br><i>Ancyclobacter aquaticus</i> e<br><i>Lamprobacter modestohalophilis</i>  | 4347/06-41 | 02/08/20 |

---

**EMPRESA BRASILEIRA DE BIOTECNOLOGIA**

**MINERAL LTDA – EMBRALM**  
Rua S-6, nº 722, Qd. S-24, Lt. 02 – Setor Bela Vista  
74.823-470 – Goiânia/GO CNPJ: 01.293.210/0001-88  
Tel: (62) 3087-7006

---

**REMEDIADOR EMBRALM**

Biorremediador para estações de tratamento de efluentes sanitários e os de indústria de alimentos, indústria frigorífica, indústria de laticínios, indústria de bebidas e indústria coureira (curtumes).

*Bacillus subtilis* e  
*Bacillus licheniformis*

4697/11-74

04/05/21

|   |  |   |  |            |   |
|---|--|---|--|------------|---|
| <b>Finkler Engenharia LTDA</b><br>Rua Salvador Rotella, 334 -<br>Centro 13280-000 – Vinhedo<br>/ SP<br>CNPJ:<br>04.602.938/0001-32<br>Fone: (11) 3042-9901          | <b>OXIQUIM<br/>PCS</b>                     | Remediador físico-químico para remediação de solos superficiais, subsuperficiais e águas subterrâneas contaminados com benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, compostos orgânicos voláteis, semi-voláteis e clorados (percloroeteno, tricloroeteno, dicloroeteno, cloreto de vinila).                  | Percarbonato de Sódio  | 4114/15-39 | 13/05/19                                |
|   | <b>OXIQUIM<br/>PSS</b>                     | Remediador físico-químico para remediação de solos superficiais, subsuperficiais e águas subterrâneas contaminados com hidrocarbonetos leves, solventes clorados, benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno, éter metil terc-butílico, hidrocarbonetos policíclicos aromaticos, 1,4-dioxano e pesticidas.   | Persulfato de sódio  | 1231/16-21 | 19/10/19                                |
| <b>GENÉTICA TECNOLOGIAS<br/>AMBIENTAIS LTDA</b><br>Rua Sete de Setembro, n°<br>2301-D – Presidente<br>Médici<br>89.802-220 – Chapecó/SC<br>Tel/Fax: (049) 3331-2636 | <b>ACCEPTOR<br/>R9</b>                     | Remediador físico-químico para uso em estações de tratamento de efluentes industriais, atuando na adsorção de zinco (Zn) e cobre (Cu).  | Hidroxiapatita   | 7034/10-21 | 22/09/18                                |
|   | <b>ALPHA 7000<br/>S</b>                    | Biorremediador para tratamento de efluentes de curtumes, indústria de bebidas, laticínios, frigoríficos, estações de tratamento de esgoto, indústria de alimentos e similares, refinarias, papel/celulose e similares, atuando na degradação de Óleos e Graxas (O&G), Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). | <i>Bacillus subtilis</i>   | 5313/10-50 | 04/05/21                                |
|   | <b>BIOGENI<br/>UN<br/>SUPERMIX<br/>GTi</b> | Biorremediador para estações de tratamento de efluentes de indústrias de alimentos, de papel e celulose (químicas) e tratamento de esgotos.   | <i>Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus polymyxa, Bacillus megaterium, Yarrowia lipolytica e Sacaromices cerevisiae</i> | 4703/11-93 | 16/03/18<br>(em análise para renovação) |

|                           |  |                            |            |          |
|---------------------------|--|----------------------------|------------|----------|
| <b>BIOGENIU<br/>N i30</b> | Biorremediador para estações de tratamento de efluentes de indústria de alimentos e de papel, celulose e compensados.  | <i>Bacillus megaterium</i> | 7761/10-98 | 12/06/20 |
| <b>BIOGENIU<br/>N v8</b>  | Biorremediador para estações de tratamento de efluentes líquidos com alto teor de óleos e graxas (laticínios e abatedouros de aves e bovinos).   | <i>Bacillus polymyxa</i>   | 6887/10-45 | 12/06/20 |
| <b>BIOGENIU<br/>N v12</b> | Biorremediador para estações de tratamento de efluentes de indústrias de alimentos, bebidas, indústrias químicas e tratamento de esgoto, com finalidade de degradar triacilglicerídios, ácidos | <i>Yarrowia lipolytica</i> | 3729/13-86 | 02/12/18 |

**GEOAMBIENTE –  
GEOLOGIA ENGENHARIA  
AMBIENTAL LTDA**

Avenida Francisco Ferreira da  
Cruz, 2.979 Eucaliptos  
83820-293 Fazenda Rio  
Grande – PR CNPJ:  
05.453.862/0001-93

**EPEROXYGEO**

Remediador físico-químico para recuperação de aquíferos freáticos e solos contaminados com compostos orgânicos voláteis (VOCs), compostos orgânicos semi-voláteis (SVOCs), benzeno, tolueno, etil benzeno, xileno, benzo(a)pireno e naftaleno.

Dióxido de cálcio

3541/16-81

17/04/21

**GEOAMBIENTE –  
GEOLOGIA ENGENHARIA  
AMBIENTAL LTDA**

Avenida Francisco Ferreira da  
Cruz, 2.979 Eucaliptos  
83820-293 Fazenda Rio  
Grande – PR CNPJ:  
05.453.862/0001-93

**EPERSULGEO**

Remediador físico-químico para recuperação de aquíferos freáticos e solos contaminados com compostos orgânicos voláteis (VOCs), compostos orgânicos semi-voláteis (SVOCs), benzeno, tolueno, etil benzeno, xileno, benzo(a)pireno, naftaleno, tetracloreto de etila, tricloreto de etileno, dicloreto de etileno e cloreto de vinila.

Persulfato de sódio

3543/16-70

04/09/20

|  |  |  |   |                   |   |
|--|--|--|---|-------------------|---|
| <p><b>GERAIS TECNOLOGIA E SOLUÇÃO LTDA ME</b><br/>Avenida Deputado Renato Azeredo, Rea assagem, 3795 37.410-000 – Três Corações/MG CNPJ: 13.022.664/0001-01 Fone: (35) 3235-2288</p>       | <p><b>ULTRA SOLID</b></p>                          | <p>Remediador químico/físico-químico para ser utilizado em bombonas de 200 litros, no tratamento de rejeito de bateladas de resíduos líquidos ou semissólidos de indústrias de amaciantes de roupas e de tintas. Destinado a absorver e encapsular as moléculas de água, retendo-as.</p> | <p>Poliacrilato de Sódio, Poliacrilato de Amônio e Poliacrilamida</p> | <p>5632/13-16</p> | <p>30/08/20</p>                             |
| <p><b>GMV EQUIPAMENTOS E SISTEMAS LTDA</b><br/>Rua Conde de Leopoldina, 456-A - São Cristóvão 20930-460 - Rio de Janeiro/RJ Fone: (21) 3890-0477</p>                                       | <p><b>PRP® - PETROLEUM REMEDIATION PRODUCT</b></p> | <p>Remediador para tratamento de vazamentos de hidrocarbonetos em ambientes terrestres e aquáticos, tais como solos, pisos pavimentados, ferrovias, vegetação, áreas costeiras, rochões, manguezais, rios, lagos e lagoas.</p>   | <p>Cera de abelhas filtrada</p>                                       | <p>9991/09-58</p> | <p>26/02/19</p>                             |
| <p><b>HIDROSCIENCE CONSULTORIA E RESTAURAÇÃO AMBIENTAL LTDA</b><br/>Rua Joaquim Nabuco 15/304 – Cidade Baixa 90050-340 – Porto Alegre/RS CNPJ: 01.486.607/0001-96 Fone: (51) 3062-7549</p> | <p><b>PHOSLOCK</b></p>                             | <p>Remediador físico-químico para corpos e cursos da água (rios, lagos e reservatórios, estuários e mar) e efluentes domésticos ou industriais ricos em fosfatos, com finalidade de remover o excesso de fósforo reativo dissolvido (ortofosfato <math>\text{PO}_4^{3-}</math>).</p>     | <p>Lantânio</p>   | <p>475/12-63</p>  | <p>02/09/18 (em análise para renovação)</p> |

|   |   |   |  |            |  |
|---|---|---|--|------------|--|
| <b>KORIN<br/>PRESERVAÇÃO E<br/>RECUPERAÇÃO DO<br/>MEIO AMBIENTE<br/>LTDA</b>  | <b>EMBIOTIC<br/>LINE-<br/>BIORREMEDI-<br/>AÇÃO- DOR<br/>HDM</b> | <p>Biorremediador para acelerar o processo de degradação de material orgânico líquido e resíduos orgânicos sólidos, como restos de poda de áreas verdes e jardins, lixo doméstico orgânico, restos de alimentos de restaurantes, refeitórios e outros estabelecimentos de preparo e comércio de alimentos; efluentes líquidos ou resíduos sólidos resultantes de processos de agroindústrias, indústrias alimentícias ou outras atividades humanas tais como esgotamentos sanitários, estações de tratamento de efluentes domésticos, fossas sépticas, caixas de gordura; efluentes líquidos e resíduos sólidos de criação animal e de aquicultura.</p> | <i>Lactobacillus plantarum, Saccharomyces cerevisiae</i> | 7092/08-30 | 19/06/21   |
| <b>LEVOR AMBIENTAL LTDA</b><br>Rua Jango Teixeira, 88<br>– Silop 11680-000 –<br>Ubatuba/SP CNPJ:<br>10.665.874/0001-11<br>Tel: (11) 3020-9009 | <b>MICROPAN<br/>NORMAL</b>                                      | <p>Remediador para Estações de Tratamento de Efluentes (ETE) industriais e domésticas, compostagem aeróbia, solos contaminados por excessos orgânicos, lagoas de decantação, estabilização e tratamento de esgotos e em córregos, canais e lagoas, com finalidade de degradar matéria orgânica, como proteínas, amidos, gorduras animais e vegetais.</p>  | <i>Bacillus subtilis</i>                                 | 9590/09-06 | 05/08/18<br>(em<br>análise<br>para<br>renovação) |
|   | <b>MICROPAN<br/>PETROL</b>                                      | <p>Biorremediador para solos e compostagem, com a finalidade de degradar hidrocarbonetos.</p>   | <i>Bacillus subtilis</i>                                 | 9535/09-16 | 05/08/18<br>(em<br>análise<br>para<br>renovação) |

**MILLENNIUM  
TECNOLOGIA AMBIENTAL  
LTDA**

Av. A.J. Renner, 1426 – Bairro  
Humaitá 90250-000 – Porto  
Alegre/RS  
CNPJ:  
03.625.129/0001-83  
Fone: (51) 3076-  
0700

**ENZILIMP  
IN**

Biorremediador para tratar estações de tratamento de efluentes industriais, tais como reatores/tanques e filtros biológicos, lagoas de estabilização, caixas de gordura e fossas sépticas e em composteiras de resíduos sólidos orgânicos, com o objetivo de biodegradação de efluentes de indústrias de processamento de alimentos (laticínios, abatedouros, frigoríficos, doces, bebidas e conservantes); agroindústrias; indústrias têxteis, químicas, petroquímicas, farmacêuticas, metalúrgicas, curtumes e papel/celulose; biodegradação de resíduos sólidos orgânicos (compostagem); redução da DQO, da DBO, óleos e graxas de origem animal e vegetal e de sólidos suspensos totais; redução de odores fétidos; partida “start” de lodo biológico em sistemas de tratamento biológico; redução de lodo em locais assoreados;

*Bacillus subtilis e*

*Bacillus  
licheniformis*

1626/12-  
09

18/04/19

**ENZILIMP  
SN**

Biorremediador para tratar estações de tratamento de esgoto sanitário (tanques/reatores e filtros biológicos, lagoas de estabilização, elevatórias, fossas sépticas e caixas de gordura), em redes coletoras, superfícies de áreas públicas (viadutos, escadarias, praças, parques ruas ou locais de eventos) e corpos d'água (reservatórios onde ocorre o armazenamento de águas residuárias, por força natural ou não, tal como bacias de contenção de água pluvial), com o objetivo de biodegradação dos efluentes de esgoto sanitário; redução da DQO, da DBO, óleos e graxas de origem animal e vegetal e de sólidos suspensos totais; redução de odores fétidos; redução de lodo em locais

*Bacillus subtilis e  
Bacillus  
licheniformis*

1627/12-  
45

18/04/19

assoreados; desobstrução de dutos de redes coletoras; limpeza de superfícies de áreas públicas com excesso de carga orgânica e recuperação de ambientes de corpos d'água com excesso de carga orgânica.

|   |  |   |  |                        |                 |
|---|--|---|--|------------------------|-----------------|
| <p><b>NCH BRASIL LTDA</b><br/>         Av. Darci Carvalho Dafferner,<br/>         200 – Bairro Boa Vista<br/>         18085-850 –<br/>         Sorocaba/SP CNPJ:<br/>         44.066.707/0001-61<br/>         Fone: (15) 3321-<br/>         9200</p>  | <p><b>FREE<br/>FLOW</b></p>              | <p>Estações de tratamento de indústrias de alimentos e de esgotos para tratar matéria orgânica (ácidos graxos, carboidratos, ésteres, sulfatos, compostos nitrogenados etc) em geral, originados da alimentação, produção, excreção e vazados para as estações de efluentes a serem tratados, com o objetivo de diminuir os níveis da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e ácidos graxos.</p> | <p><i>Bacillus subtilis e<br/>Bacillus<br/>licheniformis</i></p> | <p>8498/18-<br/>10</p> | <p>16/08/21</p> |
| <p><b>PEROXYCHEM BRASIL<br/>COMÉRCIO DE PRODUTOS<br/>QUÍMICOS LTDA</b><br/>         Rua Alvorada, nº 1289 – 3º andar,<br/>         sala 1822<br/>         / Vila Olímpia<br/>         04550-004 – São<br/>         Paulo/SP CNPJ:<br/>         20.765.143/0001-00<br/>         Fone: (11) 2373-<br/>         3911</p> | <p><b>KLOZUR<br/>PERFULFA<br/>TO</b></p> | <p>Remediador físico-químico para solos, lençóis freáticos, nas águas subterrâneas, aquíferos e em águas residuais de processos industriais, contaminados por solventes clorados, benzenos clorados, BTEX, éter metil terc-butílico (MTBE), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, 1,4-dioxano e pesticidas, através da oxidação química <i>in situ</i> e <i>ex situ</i>.</p>                 | <p>Persulfato de<br/>Sódio</p>                                   | <p>4858/12-<br/>19</p> | <p>24/02/20</p> |
| <p><b>PROJETANDO SOLUÇÕES,<br/>PESQUISA,<br/>DESENVOLVIMENTO,<br/>INDÚSTRIA E COMÉRCIO</b></p>  | <p><b>TOTALLIMP<br/>GEL</b></p>          | <p>Biorremediador para caixas de gordura, fossas sépticas, sumidouros e em Estações de Tratamento de Efluentes, para degradar a matéria orgânica como</p>   | <p><i>Pseudomonas<br/>putida</i></p>                             | <p>883/09-10</p>       | <p>04/05/21</p> |

|   |  |  |   |  |   |   |            |          |
|---|--|--|---|--|---|---|------------|----------|
| <b>LTDA</b><br>Rua 26, Quadra 70, lote 37   | óleos e graxas, proteínas e lipídeos.  | Jardim Planalto<br>72.870-000 –<br>Luziânia/GO CNPJ:<br>05.587.801/0002-08<br>Fone: (61) 3361-0311 | <b>PROPHYTO COMÉRCIO E SERVIÇOS LTDA</b><br>Avenida Ipiranga, 318, 10º andar<br>Conj 100 01046-010 – São Paulo/SP<br>CNPJ: 07.118.820/0001-21<br>Fone: (11) 3124-4455           | <b>SHE1</b><br><b>1 ORGANIC DIGESTING ENZYME</b> | Remediador químico/físico-químico para tratamento de águas residuais, remediação de sedimentos, óleos e graxas, tratamento de águas de lagos e rios, e controle de odores. Destinado a degradar matéria orgânica como proteínas, gorduras, óleos, hidrocarbonetos, graxas, lipídeos, celulose e açúcares. | Protease, Amilase, Lipase, Celulase, Urease, Esterase, Ligninase e Xilanase | 5227/13-90 | 16/08/21 |
| <b>SISTEG – CONSULTORIA EM TRATAMENTO DE EFLUENTES LTDA</b><br>Av. Getúlio Vargas, 537 – Magalhães 88790-000 – Laguna/SC<br>CNPJ: 11.492-753/0001-88 Fone: (48) 3644-6466 | Biorremediador para fossas sépticas, caixas de gordura, estações de tratamento de esgotos, efluentes sanitários, industriais, lixiviados, lagoas de estabilização, redução do lodo e eliminação de odores fétidos. | <b>SISNATE</b>   | <i>Pseudomonas alcaligenes, Pseudomonas nitroreducens, Nitrobacter vulgaris, bacillus thuringiensis, Giesbergerias sinuosa, Azospirillum brasiliense e Nitrosomonas nitrosa</i> | 7549/14-54                                       | 29/05/18<br>(em análise para renovação)   |   |            |          |
| <b>SGW SERVICES ENGENHARIA AMBIENTAL</b>  | Remediador físico-químico para tratamento in situ de solos e águas subterrâneas contaminados com etenos e etanos clorados, tetracloreto de carbono e seus derivados, pesticidas, explosivos orgânicos e metais     | <b>ISCR-IR</b>   | Farelo de Trigo ou Arroz e Pó de  | 275/11-20  | 12/06/20  |   |            |          |

|   |  |  |  |                  |                 |
|---|--|--|--|------------------|-----------------|
| <p><b>LTDA</b><br/>Rua Natingui 690 – Vila<br/>Madalena 05443-000 –<br/>São Paulo/SP<br/>CNPJ:<br/>07.285.958/0001-15<br/>Fone: (11) 3217-<br/>6300</p> | <p><b>ISCR-<br/>IRM</b></p>  | <p>reduzíveis.</p> <p>Remediador físico-químico para tratamento in situ de solos e águas subterrâneas contaminados com etenos e etanos clorados, tetracloreto de carbono e seus derivados, pesticidas, explosivos orgânicos, metais reduzíveis e cátions de metais imobilizados.</p> | <p>Ferro</p> <p>Farelo de Trigo ou<br/>Arroz, Pó de Ferro<br/>e Sulfato de<br/>Potássio e<br/>Magnésio</p> | <p>268/11-28</p> | <p>12/06/20</p> |
| <p><b>BIO CUBO<br/>WT</b></p>   | <p>Biorremediador para efluentes em caixas de gordura industriais, lagoas de estabilização e Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs).</p>   | <p><i>Bacillus amylolique-<br/>faciens, Bacillus li-<br/>cheniformis, Bacil-<br/>lus megaterium, Ba-<br/>cillus pasteurii, Ba-<br/>cillus polymyxa e<br/>Bacillus subtilis</i></p>   | <p>457/10-10</p>   | <p>22/09/18</p>  |                 |
| <p><b>BIO GRAN<br/>HC</b></p>   | <p>Biorremediação para solos contaminados por petróleo e seus derivados e ceras parafínicas. Também é indicado para promover a biodigestão e decompor os hidrocarbonetos presentes nos efluentes das caixas de armazenamento (caixa separadora de água/óleo) dos sistemas industriais, em águas subterrâneas e em Estação de</p> | <p><i>Arthrobacter<br/>parafineus,<br/>Arthrobacter<br/>petroleophagus,<br/>Micrococcus<br/>paraffinolyticus,<br/>Paenibacillus</i></p>  | <p>449/10-73</p>   | <p>27/10/18</p>  |                 |

Tratamento de Efluentes (ETE).

*naphthalenovorans,*  
*Nocardia globerula* e  
*Rhodococcus*  
*rhodochrous*  
*Bacillus*  
*amyloliquefaciens,*

**BIO GRAN  
PM**

Biorremediador para lagoas de estabilização e Estações de Tratamento de Efluentes (ETE) de indústrias de papel e celulose para degradar compostos orgânicos.

*Bacillus pasteurii,*  
*Bacillus*  
*licheniformis, Ba-*  
*cillus subtilis,*  
*Chrysosporium*  
*pannorum* e  
*Trichoderma*  
*reesei, Bacillus*  
*amyloliquefacies,*

6380/12-  
53

17/03/20

**BIO GRAN  
WT**

Biorremediador para lagoas de estabilização e Estações de Tratamento de Efluentes.

*Bacillus licheniform-*  
*is,*  
*Bacillus megateri-*  
*um, Bacillus pas-*  
*teurii, Bacillus pol-*  
*ymyxa e Bacillus*  
*subtilis*  
*Arthrobacter*  
*parafineus,*

455/10-21

27/10/18

**SUPER BAC PROTEÇÃO  
AMBIENTAL S.A.**

Rua Santa Mônica, 1025 Parque  
Industrial San José | 06715-865 –  
Cotia/SP

CNPJ:  
00.657.661/0001-94  
Tel/Fax: (11) 5641-  
4049

**BIO LIQ HC**

Biorremediador para solos contaminados por petróleo e seus derivados e ceras parafínicas. Também é indicado para promover a biodigestão e decompor os hidrocarbonetos presentes nos efluentes das caixas de armazenamento (caixa separadora de água/óleo) dos sistemas industriais, em águas subterrâneas e em Estação de Tratamento de Efluentes (ETE).

*Arthrobacter*  
*petroleophagus,*  
*Micrococcus*  
*paraffinolyticus,*  
*Paenibacillus*  
*naphthalenovor-*  
*ans, Nocardia*  
*globerula* e  
*Rhodococcus*  
*rhodochrous*

456/10-75

27/10/18

|                   |   |   |            |          |
|-------------------|---|---|------------|----------|
| <b>BIO LIQ FM</b> | Biorremediador para lagoas de estabilização e estações de tratamento de efluentes (ETE) de indústrias de bebidas, frutas, vegetais e açúcares em indústrias de papel e celulose, para degradar compostos orgânicos. | <i>Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus circulans, Bacillus licheniformis, Bacillus</i>   | 6381/12-06 | 27/04/20 |
|                   |   | <i>subtilis, Phanerochaete chrysosporium e Trichoderma longibrachiatum</i>  |            |          |
| <b>BIO LIQ PM</b> | Biorremediador para lagoas de estabilização e estações de tratamento de efluentes (ETE) de indústrias de papel e celulose para degradar compostos orgânicos.  | <i>Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus pasteurii, Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis, Chrysosporium ponnorum e Trichoderma reesei</i> | 6374/12-04 | 27/04/20 |
| <b>BIO LIQ WT</b> | Biorremediador para lagoas de estabilização e Estações de Tratamento de Esgoto (ETE).   | <i>Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus licheniformis, Bacillus megaterium, Bacillus pasteurii, Bacillus polymyxa e Bacillus subtilis</i>     | 452/10-97  | 27/10/18 |

|   |  |   |             |          |
|---|--|---|-------------|----------|
| <b>BIO<br/>TABLETE<br/>PARTS<br/>WASHER</b> | Biorremediador para soluções saturadas de óleos e graxas minerais, para decompor os hidrocarbonetos.                         | <i>Arthrobacter paraffineus</i> ,<br><i>Arthrobacter petroleophagus</i> ,<br><i>Micrococcus paraffinolyticus</i> ,<br><i>Paenibacillus naphthalenovorans</i> ,<br><i>Nocardia globerula</i> e<br><i>Rhodococcus rhodochrous</i> | 1028/09-34  | 28/09/18 |
| <b>BIOTABLET<br/>E WT</b>                   | Biorremediador para sistemas primários de tratamento de efluentes. Somente em Estações de Tratamento de Esgotos.             | <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus pasteurii</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus polymyxa</i> e <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>  | 11031/09-58 | 28/09/18 |
| <b>BIO CUBO<br/>HC</b>                      | Biorremediador para meios contaminados por petróleo e seus derivados em diques de contenção, tanques de emergência ou caixas | <i>Arthrobacter paraffineus</i> ,<br><i>Arthrobacter petroleophagus</i> ,   | 1029/09-89  | 29/09/18 |

|                     |  |  |            |          |
|---------------------|--|--|------------|----------|
|                     | de armazenamento (caixa separadora de água/óleo) em sistemas industriais, com a finalidade de reduzir os índices de contaminação por hidrocarbonetos antes do descarte dos resíduos para as Estações de Tratamento de Efluente.    | <i>Micrococcus paraffinolyticus, Paenibacillus naphthalenovorans, Nocardia globerula e Rhodococcus rhodochrous</i>                         |            |          |
| <b>WT NO ODOR</b>   | Biorremediador para ambiente industrial externo, com finalidade de degradação de compostos orgânicos.  | <i>Bacillus amyloliquefacies, Bacillus megaterium, Bacillus pasteurii, Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis e Bacillus polymyxa</i>   | 2423/13-11 | 02/08/20 |
| <b>BIO GRAN WTA</b> | Biorremediação para efluentes que contêm resíduos provenientes de criação e abatedouros de animais em lagoas de estabilização, tanques de equalização, Estação de tratamento de Efluentes de laticínios e indústrias alimentícias. | <i>Bacillus licheniformis, Bacillus coagulans, Streptomyces badius, Bacillus subtilis, Bacillus pasteurii e Bacillus amyloliquefaciens</i> | 450/10-06  | 22/09/18 |
| <b>BIO LIQ WTA</b>  | Biorremediador para lagoas de estabilização e Estações de Tratamento de Efluentes.   | <i>Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus coagulans, Bacillus licheniformis, Bacillus pasteurii, Bacillus subtilis e Streptomyces badius</i> | 448/10-29  | 29/09/18 |

|   |                           |   |  |            |          |
|---|---------------------------|---|--|------------|----------|
| <b>VERUS AMBIENTAL LTDA</b><br>Av. Brigadeiro Faria Lima, 1478<br>4º andar – Jardim Paulistano<br>01472-900 – São Paulo/SP<br>CNPJ: 33.428.780/0001-24<br>Tel: (11) 3095-5632 | <b>ACCELL<sup>3</sup></b> | Remediador químico/físico-químico para uso em estações de tratamento de efluentes industriais e pertencentes a concessionárias de serviços públicos, na biodegradação de óleos, graxas, gorduras, hidrocarbonetos etc; Tratamento de efluentes residenciais (estações de tratamento e fossas sépticas), desobstrução de tubulações e remediação, despoluição e melhorias das condições ambientais de águas interiores superficiais contaminadas com esgotos domésticos. | Extrato de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> livre de células | 3646/11-25 | 08/12/19 |
|   | <b>ACCELL CLEAN SWA</b>   | Remediador químico/físico-químico para limpeza e recuperação de ecossistemas, tais como margem de praias e rios; vegetação e rochas impregnadas de petróleo bruto.  | Extrato de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> livre de células | 3136/13-10 | 16/03/21 |
| <b>TECNOCONTROL IND. E COM. DE PRODUTOS BIOLÓGICOS LTDA</b><br>Rua Ataulfo Alves, 337 – Higienópolis 13424-370 – Piracicaba/SP<br>Fone: (19) 3433-3553                        | <b>H-BIOL</b>             | Biorremediador em Estações de Tratamento de esgotos (ETEs), industriais com carga orgânica, desobstrução de dutos e limpeza de equipamentos que estejam impregnados com material de origem orgânica.  | <i>Bacillus subtilis</i>                                   | 4814/13-61 | 18/12/18 |
| <b>UNIVERSAL LEAF TABACOS LTDA</b><br>Rod. BR 471, Km 129,8, S/N – Distrito Industrial 96835-642 – Santa Cruz do Sul/SP   | <b>BIOLEAF A03</b>        | Biorremediador para bioestabilização de resíduos sólidos agroindustriais, por compostagem, causando a aceleração da biodigestão de gorduras, proteínas, carboidratos, álcoois, ácidos   | <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 5633/13-52 | 11/04/19 |

IA= INGREDIENTES ATIVOS, N= NÚMERO REGISTRO e VR= VALIDADE DO REGISTRO

Fonte: Ibama, 2018.



