

## Levedura como probiótico na reversão sexual da tilápia-do-Nilo<sup>1</sup>

*Yeast as probiotic for Nile tilapia during the sexual reversion phase*

MEURER, Fábio<sup>2\*</sup>; HAYASHI, Carmino<sup>3</sup>; COSTA, Mateus Matiuuzzi da<sup>4</sup>; MASCIOLI, Arthur dos Santos<sup>4</sup>; COLPINI, Leda Maria Saragiotto<sup>2</sup>; FRECCIA, André<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Parte da tese de doutorado do primeiro autor.

<sup>2</sup>Universidade Federal do Paraná, Campus de Palotina, Tecnológico em Aquicultura, Palotina, PR, Brasil

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Biologia, Maringá, PR, Brasil.

<sup>4</sup>Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Zootecnia, Petrolina, PE, Brasil.

<sup>5</sup>Nutricol Alimentos Ltda, São Ludgero, SC, Brasil.

\*Endereço para correspondência: fabio\_meurer@yahoo.com.br

### RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência da inclusão da *Saccharomyces cerevisiae* (SC) como probiótico em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no período de reversão sexual sobre o desempenho, a porcentagem de reversão sexual e a colonização intestinal, em um ambiente de baixo desafio sanitário. Foram utilizadas 200 larvas de 2 dias de idade, distribuídas em um delineamento completamente casualizado com dois tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram de uma ração comercial para reversão sexual de tilápia contendo 0,1% de SC (10<sup>10</sup> Unidades Formadoras de Colônia de SC por g de produto) (TP) e outra o sem o probiótico (TT). O intestino de um alevino de cada unidade experimental foi retirado assepticamente e o seu conteúdo foi submetido à contagem e identificação dos gêneros bacterianos presentes e outros dez alevinos foram analisados quanto a efetividade da reversão sexual (ERS). O desempenho, sobrevivência, a ERS e o índice hepatossomático não foram influenciados pela inclusão de SC na ração (P>0,05). Observou-se a colonização de *Saccharomyces cerevisiae* no intestino dos alevinos do TP, o que não ocorreu nos alevinos alimentados com ração sem SC. Os principais gêneros bacterianos isolados foram *Bacillus sp.* e *Enterococcus sp.* e não foram observadas bactérias gram negativas. A levedura viva pode ser utilizada como probiótico em rações fareladas para a tilápia-do-nilo no período de reversão sexual, pois seu uso na ração não prejudica o desempenho nem o processo de reversão sexual e ainda proporciona a colonização do intestino e alterações na sua microbiota.

**Palavras-chave:** aditivo, alevino, microbiologia, pós-larva, *Saccharomyces cerevisiae*

### SUMMARY

The effect of including *Saccharomyces cerevisiae* (SC) as probiotic in rations for Nile tilapia during sexual reversion on performance, percentage of sexual reversion and intestine settling, under sanitary challenge, was evaluated. The treatments consisted of a commercial ration for sexual reversion with 0.1% of SC (10<sup>10</sup> SC Colony Formation Unit per g of product) (TP) or without the probiotic (TT). One fingerling was randomly chosen for intestine removal and counting of the number of bacteria and another ten fingerlings were analyzed for the effectiveness of sexual reversion (ERS). Performance, survival rate, ERS, and hepatic-somatic index were not affected (P>0.05) by dietary SC. The *Saccharomyces cerevisiae* settling in the intestine was noticed only in fingerlings fed TP. The main isolated bacteria were *Bacillus* spp. and *Enterococcus* spp., and no negative gram bacteria were observed. Live yeast can be used as probiotic in meal rations for Nile tilapia, during the sexual reversion, with no effect on performance and sexual reversion process and due to the intestine settling and microbiota change.

**Keywords:** additive, fingerling, microbiology, post-larvae, *Saccharomyces cerevisiae*

## INTRODUÇÃO

A larvicultura de peixes é uma das fases mais importantes para a piscicultura, pois é a etapa que determina o número e a qualidade de animais para as fases posteriores de criação. No cultivo racional de tilápia, a fase de larvicultura dos animais destinados à engorda é conhecida também como fase de reversão sexual, basicamente por causa do processo que estes indivíduos sofrem neste período.

A reversão sexual é um manejo fundamental na tilapicultura em razão da necessidade de obtenção de machos para a engorda. O macho tem maior crescimento e o cultivo monossexo evita baixo desempenho ocasionado por gastos energéticos com cópula, desova, cuidado parental e excesso populacional nos viveiros.

Na piscicultura nacional a utilização de antibióticos em rações, com o objetivo de diminuir a carga de microrganismos patogênicos é uma prática usual, porém não há informações confiáveis sobre este tipo de manejo. Esta prática é realizada com o objetivo de evitar infecções, geralmente nas fases iniciais de cultivo, em razão da baixa resistência dos peixes a agentes agressores nestas fases. Entretanto, essa prática aumenta a resistência bacteriana contra os antibióticos, levando ao aparecimento de bactérias cada vez mais difíceis de serem controladas com antibióticos (CABELLO, 2006).

O aumento de problemas ocasionados por doenças leva a perda significativa na produção aquícola, afetando o desenvolvimento econômico do setor (GRAM et al., 1999). No Brasil, com o crescimento da piscicultura intensiva, observa-se aumento da ocorrência de doenças (COSTA, 2003). Na Finlândia, bactérias como *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* e *Flavobacterium psychrophilum* são agentes causadores das doenças mais comuns na aquíicultura, que geram as maiores perdas econômicas no setor (NIKOSKELAINEN et al., 2001).

Várias alternativas ao uso de antibióticos no controle de doenças têm sido propostas com sucesso na aquíicultura e, neste contexto os probióticos podem ser uma das alternativas (NIKOSKELAINEN et al., 2001; GRAM et al., 1999; GILDBERG et al., 1997). Probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos, fornecidos por meio dos alimentos, que afetam benéficamente o hospedeiro melhorando seu balanço intestinal (FULLER, 1989). Segundo Verschuere, et al. (2000a), na aquíicultura, os probióticos não influenciam somente o hospedeiro, mas também a microbiota presente no ambiente aquático. Mattar et al. (2001) afirmam que os probióticos têm a capacidade de melhorar ou prevenir doenças.

*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Saccharomyces*, entre outros, são alguns microrganismos utilizados como probióticos (HEYMAN & MÉNARD, 2002; OUWEHAND et al., 2002). Patra & Mohamed (2003) afirmam que, apesar de o uso de *Saccharomyces* sp. como probiótico ter efeitos significativos em humanos e animais, seus efeitos são pouco estudados em organismos aquáticos.

O objetivo neste experimento foi avaliar a influência da inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico em rações para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) no período de reversão sexual o desempenho, a porcentagem de reversão sexual e colonização intestinal, em um ambiente com baixo desafio sanitário.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquíicultura no período de 31 de janeiro a 28 de fevereiro de 2004. Foram utilizadas 200 larvas de tilápia-do-Nilo, provenientes da coleta de ovos na boca, fornecidas pela Aquicultura Tupi (Guaíra, Paraná). Larvas com 2 dias de idade e  $9 \pm 1,15$ mg foram distribuídas em oito aquários de 50L,

considerando como unidade experimental um aquário com 25 larvas.

Utilizou-se delineamento experimental completamente casualizado com dois tratamentos e quatro repetições. As pós-larvas do tratamento testemunha foram alimentadas com ração comercial sem probiótico, enquanto as do tratamento-teste receberam a mesma ração comercial contendo 0,1% de probiótico. O probiótico utilizado foi um produto comercial que garantia a quantidade de  $10^{10}$  células vivas de *Saccharomyces cerevisiae* por grama, portanto, em cada quilograma da ração-teste havia cerca de  $10^5$  células vivas. Esses valores foram confirmados pelo número unidades formadoras de colônia (UFC) de *S. cerevisiae*, estimado por meio de contagem em placa de Petri, utilizando meio seletivo para leveduras *yeast growth cloramphenicol* (YGC), conforme metodologia descrita adiante.

Os aquários possuíam aeração constante por contato, promovida por pedras microporosas ligadas por meio de mangueiras de silicone a mini-compressores de ar de saída dupla. Os aquários foram sifonados duas vezes ao dia (6\_h e 18\_h) para retirada das fezes e de eventuais restos de ração, removendo-se cerca de 20% da água nos primeiros dez dias e 50% até final do período experimental.

A água utilizada no experimento era proveniente da rede Municipal de abastecimento, portanto tratada com cloro, o qual foi neutralizado com a adição de tiosulfato de sódio. A temperatura da água foi aferida diariamente pela manhã e à tarde. Os demais parâmetros (pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica da água) foram mensurados semanalmente, pela manhã, sempre antes da sifonagem. Para confirmação do ambiente com baixo desafio sanitário a água utilizada nos aquários foi constantemente analisada quanto ao conteúdo microbiológico de coliformes e bactérias totais, segundo metodologia descrita posteriormente.

Foi utilizada uma ração comercial contendo 38,6% de proteína digestível (PD), 3.800kcal de energia digestível (ED)/kg de ração e

60mg/kg de ração de 17- $\alpha$ -metil-testosterona. Os ingredientes utilizados na confecção da ração foram: farinha de vísceras de aves, farelo de soja, milho moído, calcário calcítico, fosfato bicálcico e um complemento vitamínico-mineral. O fornecimento de ração foi à vontade, cinco vezes ao dia, às 7, 10, 13, 16 e 19h.

Ao final do período experimental, todos os alevinos de cada unidade experimental foram contados, pesados e medidos individualmente para a determinação dos parâmetros de sobrevivência, biomassa, peso final médio, comprimento final médio e fator de condição corporal (peso corporal/comprimento corporal<sup>3</sup>  $\times$  100). Outros dez alevinos de cada unidade experimental foram conservados em formalina para a análise de efetividade de reversão sexual, conforme a metodologia descrita por Popma & Green (1990).

De cada unidade experimental foram escolhidos aleatoriamente dois alevinos, que foram insensibilizados em água gelada (cerca de 2°C), pesados e abatidos por decapitação. Posteriormente, o fígado foi extraído para determinação do índice hepato-somático (IHS), (peso do fígado/peso corporal  $\times$  100). De um destes animais foi também extraído o intestino para análise da colonização por *S. cerevisiae*, coliformes totais e bactérias totais e determinação dos gêneros bacterianos presentes.

O intestino foi retirado assepticamente, pesado e diluído em 2mL de água destilada estéril em um tubo de ensaio. Em seguida, o tubo contendo o intestino foi homogeneizado em vórtex e do material homogeneizado, foram feitas diluições decimais em tubos com água destilada estéril ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ). Para a contagem de bactérias totais, utilizou-se o meio em ágar padrão de contagem (PCA) em placas de Petri, utilizando 1 mL das soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e pura. A contagem de coliformes totais foi realizada em meio ágar violeta bile vermelho neutro (VBR) em placas de Petri com 1mL das soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e pura. A identificação

dos gêneros bacterianos foi feita em placas de Petri contendo os meios ágar sangue e ágar Mac Conkey, que foram semeados com alíquotas do conteúdo intestinal puro, utilizando-se alça de platina.

Para verificar a presença e efetuar a contagem de *S. cerevisiae*, utilizou-se o meio seletivo contendo YGC, em placas de Petri, com 1 mL das soluções de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e pura. Depois de preparadas, as placas de Petri foram colocadas em uma estufa microbiológica para incubação a 27°C por 48 horas. Após este período, foram contadas as colônias e identificados os gêneros bacterianos.

Depois de calculados os valores de desempenho, sobrevivência, IHS, efetividade da reversão sexual e os parâmetros físico-químicos da água, os dados foram submetidos à análise de variância e os valores de *S. cerevisiae*, coliformes totais, bactérias totais e gêneros bacterianos foram comparados pelo teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade,

ambos pelo Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1997), quando necessário.

## RESULTADOS

Os parâmetros físico-químicos da água dos aquários (Tabela 1) não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos ( $P>0,05$ ).

Os resultados médios finais de biomassa, peso, comprimento, fator de condição, índice hepato-somático e sobrevivência dos alevinos das unidades experimentais estão apresentados na Tabela 2. Os valores médios dos parâmetros estudados não diferiram entre os tratamentos ( $P>0,05$ ). A efetividade da reversão sexual foi de 100% e não foi afetada pelo uso de SC na ração, pois foi semelhante entre os tratamentos ( $P>0,05$ ).

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos da água das unidades experimentais.

Tratamento	TP <sup>1</sup>	TT <sup>2</sup>	CV (%)
Temperatura manhã (°C)	27,2	27,3	4,5
Temperatura tarde (°C)	27,1	27,2	4,1
pH	7,5	7,4	2,0
Condutividade (µSm/cm)	96,0	97,6	3,0
Oxigênio dissolvido (mg/L)	6,5	6,2	7,8

<sup>1</sup>TP tratamento com probiótico. <sup>2</sup>TT tratamento sem probiótico.

Tabela 2. Parâmetros de desempenho dos alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a rações com e sem probiótico

Parâmetro	TP <sup>1</sup>	TT <sup>2</sup>	CV (%)
Biomassa (g)	37,68	40,02	6,0
Peso final médio (g)	1,55	1,62	6,1
Comprimento final médio (cm)	4,60	4,65	1,7
Fator de condição corporal	1,61	1,61	2,0
Sobrevivência (%)	97,3	99,0	2,2
Índice hepato-somático	1,89	2,23	12,8

<sup>1</sup>TP tratamento com probiótico. <sup>2</sup>TT tratamento sem probiótico.

A presença *S. cerevisiae* foi encontrada apenas no intestino dos alevinos alimentados com a ração contendo probiótico, que apresentou número médio de  $1,0 \times 10^5$  UFC. O número médio das contagens de UFC de bactérias totais no intestino das tilápias-do-Nilo não diferiu significativamente entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ) e foi de  $1,08 \times 10^7$  e  $1,68 \times 10^6$ , respectivamente, para os alevinos do tratamento com probiótico e sem probiótico com coeficiente de variação de 72,3%. Nos alevinos alimentados com a ração contendo probiótico foi encontrada a presença do gênero *Bacillus* sp., enquanto naqueles alimentados com a ração sem probiótico foram encontrados os gêneros *Bacillus* sp. e *Enterococcus* sp. Não foram observadas bactérias gram negativas comumente encontradas no trato digestório de peixes.

## DISCUSSÃO

Os valores dos parâmetros físico-químicos da água dos aquários permaneceram na faixa recomendada para o bom desempenho desta espécie. O número de bactérias e coliformes totais confirmou a boa qualidade da água utilizada no experimento, com valores dentro dos parâmetros para se considerar a água adequada, tanto para o consumo humano quanto para o cultivo de peixes (BRASIL, 2005), o que confirma o baixo desafio sanitário imposto aos peixes.

A inclusão de levedura viva na ração de tilápias-do-Nilo durante a fase de reversão sexual não influenciou no processo de reversão, fato importante, pois esse parâmetro é tão ou mais importante que o próprio desempenho produtivo, uma vez que um lote de alevinos de peso abaixo do ideal pode se recuperar com manejo e alimentação adequados (MEURER et al., 2004). Entretanto, se o mesmo lote possuir baixa taxa de reversão sexual, a engorda poderá estar seriamente prejudicada pelos

problemas decorrentes da reprodução nos viveiros de engorda (MEURER et al., 2005; BOMBARDELLI et al., 2004; TOYAMA et al., 2000). Os valores da efetividade de reversão sexual estão de acordo com os descritos por Boscolo et al., (2005) e Meurer et al., (2004), que podem ser considerados excelentes (BOMBARDELLI et al., 2004).

Os resultados do desempenho e sobrevivência observados neste experimento foram semelhantes aos descritos por Meurer et al. (2006) e corroboram com os reportados por Makridis et al. (2000), que não obtiveram efeito da adição de duas cepas de bactérias (4:44 e PB52) sobre os parâmetros de desempenho e sobrevivência durante a larvicultura do turbot (*Scophthalmus maximus*). Entretanto, divergem dos apresentados por Lara-Flores et al. (2003), que utilizaram dois tipos de probióticos (*Saccharomyces cerevisiae* e uma mistura de *Streptococcus faecium* e *Lactobacillus acidophilus*), fato que pode estar relacionado à fase de crescimento pesquisada (alevinos com 3 semanas de idade e 152,3mg de peso médio) e ao maior período experimental utilizado pelos pesquisadores acima citados.

Da mesma forma que neste experimento, a levedura viva não influenciou a sobrevivência em estudo realizado por Meurer et al. (2006), resultado que diverge dos obtidos por Gildberg et al. (1997), em que larvas de bacalhau-do-atlântico (*G. morhua*) expostas ao patógeno *Vibrio anguillarum* e alimentadas com ração contendo o probiótico *Carnobacterium divergens* apresentaram mortalidade significativamente menor que a das larvas que não receberam o probiótico. Os resultados obtidos neste estudo diferem também dos valores apresentados por Carnevali et al. (2004) para a sobrevivência de larvas do sea bream (*Sparus aurata*), que observaram efeito positivo da adição de probióticos, um consórcio entre *L. plantarum* e *L. fructivorans*.

A inclusão de *S. cerevisiae* promoveu a colonização dos intestinos das tilápias-do-Nilo durante a fase de reversão sexual, o que confirma informações de Meurer et al. (2006). Os dados desta pesquisa estão de acordo também com os reportados por Andlid et al. (1995) de que certas cepas de levedura podem colonizar o intestino do turbot (*S. maximus*) e da truta arco-íris (*Salmo gairdneri*) em valores acima de  $4 \times 10^4$  UFC. Da mesma forma, concordam com os valores apresentados por Carnevali et al. (2004) sobre a colonização intestinal de larvas de sea bream por *L. fructivorans* e *L. plantarum*, bem como com os dados descritos por Gildberg et al. (1997) para a colonização do intestino do bacalhau-do-atlântico por *C. divergens*.

A adição de *S. cerevisiae* à ração não proporcionou diminuição do número total de bactérias presentes no intestino das tilápias-do-Nilo durante o período de reversão sexual, dados que confirmam os apresentados por Carnevali et al. (2004), que, durante os primeiros 35 dias de cultivo de larvas de sea bream, observaram que tanto as bactérias anaeróbicas quanto as aeróbicas intestinais não haviam sofrido modificação com a inclusão de *Lactobacillus* sp. Esses autores também demonstraram haver mudança significativa da microbiota após o 66º dia de cultivo. A adição de *S. cerevisiae* à ração de tilápias-do-Nilo após o período de reversão sexual influenciou no tipo de gênero de bactérias encontrado, uma vez que no tratamento com probiótico foi encontrado apenas o gênero *Bacillus* sp., enquanto no tratamento sem probiótico, além do anterior, também foi observado o *Enterococcus* sp. Meurer et al. (2006) encontraram um número significativamente inferior de coliformes totais por grama de intestino no tratamento com levedura em comparação ao tratamento sem este probiótico.

A adição de *S. cerevisiae* à ração das tilápias-do-Nilo durante o período de reversão sexual não teve efeito significativo no desempenho dos alevinos e

possui alguns fatores que são pré-requisitos para microrganismos utilizados como probióticos, como a colonização do trato digestório (ABIDI, 2003; VERSCHUERE et al., 2000a) e a modificação da microbiota intestinal (VAUGHAM et al., 2002; DUNNE et al., 1999).

Estudos relacionados ao uso de probióticos na aquicultura são raros e muitas vezes inconclusivos (GILDBERG et al., 1997). Poucos são os trabalhos sobre a inclusão de probióticos em rações para tilápia-do-Nilo, porém existem vários trabalhos nesta área com monogástricos, como aves e suínos (LARA-FLORES et al., 2003; LIMA et al., 2003; PEDROSO, 2003; LODDI et al., 2000; ZUANON, et al., 1998).

Vários autores têm demonstrado o efeito de probióticos sobre o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, geralmente utilizando a inoculação artificial de patógenos específicos (GILDBERG et al., 1997; GRAM et al., 1999; VERSCHUERE et al., 2000b; NIKOSKELAINEM et al., 2001). De acordo com Abidi (2003), os probióticos têm efeito sobre os outros componentes da microbiota, fenômeno denominado exclusão competitiva.

De acordo com Lima et al. (2003), em experimentos com boas condições de manejo (nutricionais e sanitárias), muitas vezes não são constatados efeitos do fornecimento de probióticos sobre o desempenho dos animais, pois nestas condições a possibilidade de contato dos animais com microrganismos patogênicos é menor (LODDI et al., 2000; ZUANON et al., 1998).

Em decorrência do baixo desafio sanitário imposto aos alevinos, a possibilidade da presença de microrganismos potencialmente patogênicos no ambiente foi baixa, em razão da qualidade da água e do manejo sanitário utilizado no experimento. A água foi proveniente da rede de abastecimento do município, portanto com baixa quantidade de microrganismos, fato comprovado nas análises microbiológicas. Além disso, nas sifonagens periódicas, todo o material orgânico (fezes e restos de ração) presentes

no aquário era retirado e os alevinos encontravam-se em bom estado nutricional, obtido com a utilização de ração e manejo alimentar adequado aliado às boas condições ambientais presentes (temperatura, quantidade de oxigênio, pH e da água dos aquários experimentais). Portanto, a contaminação dos aquários por microrganismos potencialmente patogênicos não ocorreu no curto período de reversão sexual, que foi de 28 dias, fatores que podem ter determinado a ausência de efeito da adição de *S. cerevisiae* à ração da tilápias-do-Nilo, durante o período de reversão sexual sobre o desempenho e sobrevivência dos alevinos. Entretanto, a ausência de efeito sobre os parâmetros de desempenho e reversão sexual das pós-larvas de tilápia-do-Nilo, bem como da colonização do seu trato intestinal é um fator positivo pois comprova que a presença da levedura viva no trato digestório não prejudica o hospedeiro, o que indica não haver competição entre os alevinos e a levedura por nutrientes ou que a levedura não interfere nos processos digestivos normais do hospedeiro. Esse é mais um fator importante para que um microrganismo seja utilizado como probiótico.

É necessária a realização de mais trabalhos para evidenciar em que situações a levedura pode proporcionar a proteção esperada de um probiótico, portanto, trabalhos com a utilização de desafios sanitários, bem como inoculação de agentes patogênicos, nas várias fases de cultivo de tilápia-do-Nilo devem ser realizados para este fim.

A levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) pode ser utilizada como probiótico em rações fareladas para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual, pois não prejudica o desempenho nem o processo de reversão sexual e ainda proporciona a colonização do intestino e alterações na sua microbiota.

## REFERÊNCIAS

ABIDI, R. Use of probiotics in larval rearing of new candidate species. **Aquaculture Asia**, v.8, n.2, p.15-16, 2003.

ANDLID, T.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; GUSTAFSSON, L. Yeast colonizing the intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). **Microbial Ecology**, v.30, p.321-334, 1995.

BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Avaliação de rações fareladas e micropelletizadas para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): desempenho e efetividade de reversão sexual. **Acta Scientiarum**, v.26, n.2, p.197-201, 2004.

BOSCOLO, W.R.; MEURER, F.; FEIDEN, A.; HAYASHI, C.; REÍDLE, A.; GENTELINE, A.L. Farinha de vísceras de aves em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) durante a fase de reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2. p.373-377, 2005.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resolução nº 357. Estabelece os padrões e as condições de lançamento de efluentes nas águas brasileiras. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.

CABELLO, F.C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. **Environment Microbiology**, v.8, n.7, p.1137-1144, 2006.

CARNEVALI, O.; ZAMPONI, M.C.; SULPIZIO, R.; ROLLO, A.; NARDI, M.; ORPIANESI, C.; SILVI, S.; CAGGIANO, M.; POLZONETTI, A.M.; CRESCI, A. Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development. **Aquaculture International**, v.12, p.377-386, 2004.

**COSTA, A.B. Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica.**

2003. 54f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

DUNNE, C.; MURPHY, L.; FLYNN, S.; O'MAHONY, L.; O'HALLORAN, S.; FEENEY, M.; MORRISSEY, D.; THORNTON, G.; FITZGERALD, G.; DALY, C.; KIELY, B.; QUIGLEY, E.M.M.; O'SULLIVAN, G.C.; SHANAHAN, F.; COLLINS, J.K. Probiotics: from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models and in human clinical trials. **Antonie Von Leeuwenhoek**, v.76, p.279-299, 1999.

FULLER, R. A review: probiotic in man and animals. **Journal Applied Environmental Microbiology**, v.63, p.1034-1039, 1989.

GILDBERG, A.; MIKKELSEN, H.; SANDAKER, E.; RINGO, E. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*). **Hydrobiologia**, v.352, p.279-285, 1997.

GRAM, L.; MELCHIORSEN, J.; SPANGGARD, B.; HUBNER, I.; NIELSEN, T.F. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. **Applies and Environmental Microbiology**, v.65, n.3, p.969-973, 1999.

HEYMAN, M.; MÉNARD, S. Review: probiotic microorganisms: how they affect intestinal pathophysiology. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.59, p.1151-1165, 2002.

LARA-FLORES, M.; OLVEA-NOVOA, M.A.; GUZMAN-MENDEZ, B.E.; LOPEZ-MADRID, W. Use of bactéria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.216, n.1-4, p.193-201, 2003.

LIMA, A.C.F.; PIZAURO JÚNIOR, J.M.; MACARI, M.; MALHEIROS, E.B. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.200-207, 2003.

LODDI, M.M.; GONZALES, E.; TAKITA, T.S.; MENDES, A.A.; ROÇA, R.O. Uso de probiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1124-1131, 2000.

MAKRIDIS, P.; FJELLHEIM, A.J.; SKJERMO, J. VADSTEIN, O. Colonization of the gut in first feeding turbot by bacterial strains added to the water or biencapsulated in rotifers. **Aquaculture International**, v.8, n.5, p.367-380, 2000.

MATTAR, A.F.; DRONGOWSKI, R.A.; CORAN, A.G.; HARMON, C.M. Effect of probiotics on enterocyte bacterial translocation in vitro. **Pediatric Surgery Int**, v.17, p.265-268, 2001.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; FORNARI, D.C.; BOMBARDELLI, R.A.; BARBERO, L. Milheto em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Acta Scientiarum**, v.26, n.3, p.323-327, 2004.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SCHAMBER, C.R.; BOMBARDELLI, R.A. Fontes protéicas suplementadas com aminoácidos e minerais para a tilápia do Nilo durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.1-6, 2005.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; COSTA, M.M.; MAUERWERK, V.L.; FRECCIA, A. Utilização de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para tilápias-do-nilo durante o período de reversão sexual submetidas a um desafio sanitário. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1881-1886, 2006.

NIKOSKELANEN, S.; SALMINEN, S.;  
BYLUND, G.; OUWEHAND, A.C.  
Characterization of the properties of  
human and dairy-derived probiotics for  
prevention of infectious diseases in fish.  
**Applies and Environmental  
Microbiology**, v.67, n.6, p.2430-2435,  
2001.

OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S.;  
ISOLAURI, E. Probiotics: an overview of  
beneficial effects. **Antoine von  
Leeuwenhoek**, v.82. p.279-289, 2002.

PATRA, S.K.; MOHAMED, K.S.  
Enrichment of *Artemia nauplii* with the  
probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*  
and its resistance against a pathogenic  
*Vibrio*. **Aquaculture International**, v.11,  
p.505-514, 2003.

PEDROSO, A.A. **Estrutura da  
comunidade de *Bacteria* do trato  
intestinal de frangos suplementados com  
promotores de crescimento**. 2003. 103f.  
Tese (Doutorado em Agronomia) –  
Universidade de São Paulo, São Paulo.

POPMA, T. J.; GREEN, B. W.  
Aquacultural production manual: sex  
reversal of tilapia in earthen ponds.  
**Research and Development Series**, v.35,  
p.1–15, 1990.

TOYAMA, G.N.; CORRENTES, J.E.;  
CYRINO, J.E.P. Suplementação de  
vitamina C em rações para a reversão  
sexual da tilápia do Nilo. **Scientia  
Agrícola**, v.57, n.2, p.221-228, 2000.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
VIÇOSA - UFV. **Sistema para análises  
estatísticas e genéticas** - SAEG. Versão  
7.1. Viçosa, 1997. 150p. (Manual do  
usuário).

VAUGHAN, E.E.; VRIES, M.C.;  
ZOETENDAL, E.G.; BEN-AMOR K.;  
AKKERMANS A.D.L.; DE VOS W.M.  
The intestinal LABs. **Antoine von  
Leeuwenhoek**, v.82, p.341-352, 2002.

VERSCHUERE, L.; HEANG, H.; CRIEL,  
G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W.  
Selected bacterial strains protect *Artemia*  
spp. from the pathogenic effects of *Vibrio  
proteolyticus* CW8T2. **Applied and  
Environmental Microbiology**, v.66, n.3,  
p.1139-1146, 2000b.

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.;  
SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W.  
Probiotic bacteria as biological control  
agents in aquaculture. **Microbiology and  
Molecular biology Reviews**, v.64, v.4,  
p.655-671, 2000a.

ZUANON, J.A.S.; FONSECA, J.B.;  
ROSTAGNO, H.S.; ALMEIDA E SILVA,  
M. Efeito de promotores de crescimento  
sobre o desempenho de frangos de corte.  
**Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27,  
n.5, p.999-1005, 1998.

Data de recebimento: 13/03/2008

Data de aprovação: 09/09/2008