

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

GLUCANOS E MANANOS EM DIETAS PARA PACU

Acadêmica: Michelly Pereira Soares

Aquidauana-MS  
Abril/2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

GLUCANOS E MANANOS EM DIETAS PARA PACU

Acadêmica: Michelly Pereira Soares

Orientador: Prof. Dr. Hamilton Hisano

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristiane Meldau de Campos Amaral

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia”.

Aquidauana-MS  
Abril/2016

S655g Soares, Michelly Pereira

Glucanos e mananos em dietas para pacu/ Michelly Pereira  
Soares. – Aquidauana, MS: UEMS, 2016.  
62 f.

Dissertação (Mestrado) – Zootecnia – Universidade  
Estadual de Mato Grosso do Sul, 2016.

Orientador: Dr. Hamilton Hisano.

Co-orientadora: Profª Drª Cristiane Meldau de Campos  
Amaral.

1. Aeromonas hydrophila 2. Glucanos 3. Mananos 4. Piaractus  
mesopotamicus 5. Estresse I. Título

CDD 23.ed. - 597

**MICHELLY PEREIRA SOARES**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

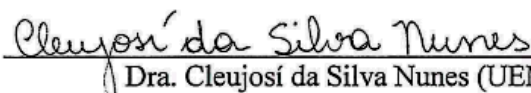
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/04/2016.



Dr. Hamilton Hisano (Embrapa Meio Ambiente)  
Orientador



Dra. Elis Regina de Moraes Garcia (UEMS)



Dra. Cleujosí da Silva Nunes (UEMS)

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Elso e Suely, à minhas irmãs Mayara e Ana Maria, porque toda vitória é repleta de muito apoio, amor e compreensão.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, meu pai, meu amigo, meu herói Elso Pereira Soares e a minha mãe, minha amiga, minha guerreira Suely Maria da Silva Soares pelo apoio e carinho. Agradeço muitíssimo pela vida que me deram e por me ensinarem a viver com dignidade! À minhas irmãs e parceiras Mayara e Ana Maria, obrigada pela amizade e por sempre estarem comigo. Obrigado à vocês que fazem tudo isso ter um valor mais grandioso. Amo vocês!

Ao orientador, Dr. Hamilton Hisano pela oportunidade, compreensão, confiança, dedicação, paciência e por todos os ensinamentos valiosos para execução deste trabalho em toda caminhada durante o mestrado. A sua orientação tem contribuído muito para meu crescimento científico e pessoal.

A co-orientadora, Dr<sup>a</sup> Cristiane Meldau de Campos Amaral por ter me recebido, pela confiança, amizade, dedicação, não só durante toda a etapa de execução do trabalho, mas também por toda caminhada durante o mestrado. Sua orientação só fez contribuir para meu crescimento, científico e pessoal.

A empresa YES-Sinergy, em especial a Dr<sup>a</sup> Fabiana Golin Luiggi - Coordenadora Técnica e de Pesquisas pela parceria e apoio financeiro para execução de algumas análises.

À UEMS (Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul) e a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelas bolsas concedidas.

Aos colegas do Laboratório de Sanidade de Peixes: Cleujosí, Fúlvia, Dayanna, Evelyn, Leonardo, Pamela, Rubia, Tatiane, Wesley e João Vitor, agradeço por serem companheiros, pelo auxílio nos experimentos e pela ajuda nas coletas, sem vocês não seria possível finalizar este trabalho, muito obrigada pela colaboração de cada um.

Aos colegas do Laboratório de Ecossistemas Aquáticos – Embrapa Meio Ambiente: Israel, Giovanni, Victor e Jefferson pelo auxílio nas análises e disposição em ajudar.

Agradeço a querida Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati por ter me recebido em seu Laboratório e pelo auxílio na análise de lisozima. Meu muito obrigado a MSc. Talísia Martins e a técnica Damares Roviero por todos os ensinamentos e assistência na execução das análises.

A Dra. Marina Keiko Pieroni Iwashita pela colaboração no experimento com as análises de cortisol.

Agradeço também aos técnicos, Ana Lucia, Gino e Marisa pelo auxílio e instrução; e pesquisadores da Embrapa Meio Ambiente, Dr. Ricardo Pazianotto e Msc. Marcos Losekann pelos ensinamentos e auxílio na estatística.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UEMS, pelos ensinamentos e pelo incentivo.

A Dr<sup>a</sup> Fabiana Golin Luiggi e Dr<sup>a</sup> Cristiane Meldau de Campos Amaral por compor a banca de qualificação, obrigada por todas as críticas e contribuições que só enriqueceram ainda mais o trabalho.

Aos funcionários da UEMS, principalmente ao Cícero, Marlúcia, Alisson, Renato, Alan, João, Vagnes, Eraldo, Roseli, Douglas e Juarez pela ajuda durante os experimentos, pelo carinho e amizade. Meu muito obrigado pela disposição em me ajudarem prontamente sempre que precisei.

Eu agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização da minha formação e participaram de todos os momentos bons e os difíceis. Meus agradecimentos e carinho eterno a todos.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
CAPITULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. ESPÉCIE ESTUDADA: PACU ( <i>Piaractus mesopotamicus</i> ).....	3
2.2. ESTRESSE EM PEIXES.....	4
2.3. IMUNOESTIMULANTES.....	6
2.4. LEVEDURA ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ).....	8
2.5. USO DE MANANOLIGOSSACARÍDEO (MOS) EM DIETAS PARA PEIXES.....	9
2.6. USO DE $\beta$ -GLUCANOS EM DIETAS PARA PEIXES.....	11
3. OBJETIVOS.....	14
3.1. OBJETIVO GERAL.....	14
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
CAPITULO 2 - DESEMPENHO, RESPOSTAS HEMATOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E IMUNOLÓGICAS DE PACUS ALIMENTADOS COM Glucan-MOS <sup>®</sup> SUBMETIDOS A ESTRESSE E DESAFIO POR <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	22
RESUMO.....	22
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
DISCUSSÃO.....	32
CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação e composição bromatológica das rações experimentais.....	43
Tabela 2. Desempenho zootécnico dos juvenis de pacu alimentados com dietas suplementadas com glucanos e mananos após 30 dias de experimento. Peso inicial (PI), ganho de peso (GP), consumo diário de ração (CD), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de eficiência proteica (TEP).....	44
Tabela 3. Variáveis sanguíneas de pacus alimentados com diferentes níveis de glucanos e mananos antes e após o estresse por perseguição e exposição ao ar e nos tempos 3h, 6h e 24 h após desafio bacteriano.....	45
Tabela 4. Contagem total de leucócitos e trombócitos de pacus alimentados com diferentes níveis de glucanos e mananos antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar e nos tempos 3h, 6h e 24 h após desafio bacteriano.....	46
Tabela 5. Contagem diferencial de leucócitos de pacus alimentados com diferentes níveis de glucanos e mananos antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar e nos tempos 3h, 6h e 24 h após desafio bacteriano.....	47

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Glicemia de juvenis de pacu antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar, nos tempos 3, 6 e 24 horas após desafio bacteriano alimentados com rações suplementadas com glucanos e mananos.....48
- Figura 2. Concentração sérica de cortisol antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar, nos tempos 3, 6 e 24 horas após desafio bacteriano alimentados com rações suplementadas com glucanos e mananos.....48
- Figura 3. Atividade respiratória dos leucócitos antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar, nos tempos 3, 6 e 24 horas após desafio bacteriano para juvenis de pacu alimentados com rações suplementadas com glucanos e mananos.....49
- Figura 4. Concentração sérica de lisozima antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar, nos tempos 3, 6 e 24 horas após desafio bacteriano para juvenis de pacu alimentados com rações suplementadas com glucanos e mananos.....49

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da suplementação com glucanos e mananos (Glucan-MOS<sup>®</sup>) em dietas para juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus*, por meio do desempenho zootécnico, e variáveis hematológicas, fisiológicas e imunológicas. Esta dissertação foi dividida em dois capítulos. O capítulo 1 tratou da revisão geral do tema em estudo. O capítulo 2 correspondeu ao experimento que avaliou o desempenho, respostas hematológicas, fisiológicas e imunológicas de pacus alimentados com Glucan-MOS<sup>®</sup> nas porcentagens de 0,0; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8% e fornecidos aos animais por 30 dias. Ao final do período de alimentação, os peixes foram submetidos à estresse por perseguição seguida de exposição ao ar e desafio por *Aeromonas hydrophila*. A suplementação de Glucan-MOS<sup>®</sup> a 0,1 % melhorou ( $p < 0,05$ ) o ganho de peso, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica em relação à ração controle. O grupo suplementado com 0,2% de Glucan-MOS<sup>®</sup> apresentou maior atividade respiratória de leucócitos e lisozimas ( $p < 0,05$ ) após desafio bacteriano, e tendência na redução do efeito do estresse relacionado à diminuição dos níveis de cortisol e glicose, quando comparado com o tratamento controle. Desse modo, a suplementação entre 0,1 a 0,2% de Glucan-MOS<sup>®</sup> por 30 dias, melhora o desempenho animal, e a resistência de pacus desafiados com *Aeromonas hydrophila*.

Palavras-chave: *Aeromonas hydrophila*, estresse, *Piaractus mesopotamicus*, sistema imune

## ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the dietary glucan and mannan (Glucan-MOS<sup>®</sup>) to pacu *Piaractus mesopotamicus* juveniles on the growth performance, hematology, physiological and immunological variables. This dissertation was divided in two chapters. The chapter one was about the general revision of the theme of this study. The chapter 2 corresponded to the trial that evaluated the growth performance, haematological, physiological and immunological responses of pacu fed diets with Glucan-MOS<sup>®</sup> at 0.0; 0.1; 0.2; 0.4 and 0.8%, during 30 days. At the end of feed trail, fish were submitted to stress after chasing, and further to air exposition and *Aeromonas hydrophila* challenge. Glucan-MOS<sup>®</sup> at 0.1% improved ( $p<0.05$ ) the weight gain, feed conversion ratio and protein efficiency ratio, compared to control diet. The group supplemented with 0.2% of Glucan-MOS<sup>®</sup> showed the highest respiratory activity of leucocytes and lysozyme ( $p<0.05$ ) after bacterial challenge, and trend to decrease the stress effect related to reduction in glucose and cortisol levels, in comparison to control. Thus, the supplementation of 0.1 to 0.2% Glucan-MOS<sup>®</sup> for 30 days improves the growth performance and resistance of pacu challenged with *Aeromonas hydrophila*.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*; stress; *Piaractus mesopotamicus*; immune system

## CAPITULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. INTRODUÇÃO

O crescimento da piscicultura no Brasil está relacionado à intensificação da produção, que preconiza sistemas com altas densidades de estocagem, fornecimento de altas quantidades de ração e diferentes tipos de manejos, que são críticos para o aumento e/ou ocorrência de doenças e infecções nos peixes (CYRINO et al., 2010).

Como estratégia para minimizar as perdas por doenças bacterianas, os antibióticos e quimioterápicos têm sido amplamente utilizados para controlar agentes infecciosos, assim como promover maior crescimento, podendo ser adicionado à ração ou diretamente na água (BELEM-COSTA & CYRINO, 2006).

Por outro lado, o uso abusivo e em doses subterapêuticas podem provocar seleção indesejada de bactérias resistentes, além de causar desequilíbrio bacteriano no intestino do animal (YOUSEFIAN; AMIRI, 2009). Além disso, a utilização inadequada desses produtos pode ocasionar acúmulo de resíduos nos órgãos e tecidos de humanos e animais (MOTA et al., 2005).

Em função dos problemas relatados anteriormente, a União Européia banuiu o emprego de vários antibióticos quimioterápicos na alimentação animal. Além disso, existe o apelo dos consumidores conscientes pela qualidade alimentar, preocupados em consumir produtos livres de terapêuticos sintéticos e produtos químicos (BOSCOLO et al., 2012). Dessa forma, os imunoestimulantes têm recebido atenção especial na aquicultura, destacando a utilização de produtos naturais, como por exemplo, as leveduras e seus derivados.

Os glucanos e mananos são derivados da parede celular de levedura, *Saccharomyces cerevisiae* (GANGULY et al., 2013), os quais têm sido recentemente estudados em peixes e mostrado resultados efetivos em diferentes espécies, como melhora na morfologia da mucosa intestinal e conversão alimentar (SCHWARZ et. al., 2011), aumento do crescimento,

ativação do sistema imunológico e aumento de resistência à infecção bacteriana (TORRECILLAS et al., 2007).

A produção inicial de peixes exige maior controle, com fornecimento de dietas balanceadas e melhoria nas condições de saúde dos peixes, e o uso de imunostimulantes é uma alternativa para melhorar o sistema imune destes animais, reduzindo problemas com estresse e surgimento de doenças (RINGO et al., 2010). Portanto, pesquisas nessa área precisam ser incentivadas, principalmente com espécies nativas, que possuem grande potencial de produção e poucas informações científicas sobre o uso destes aditivos.

Diante disto, é fundamental que se estabeleçam dados sobre bases fisiológicas, hematológicas e imunológicas dos peixes cultivados para melhor compreensão das respostas que interferem no desempenho e saúde do animal, além de medidas para proporcionar bem estar ao animal e menor impacto ambiental da atividade.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. ESPÉCIE ESTUDADA: PACU (*Piaractus mesopotamicus*)

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é uma espécie de peixe nativa neotropical de água doce que apresenta grande importância econômica aos ecossistemas brasileiros (YAMAGUCHI et al., 2008). Possui corpo ovalado e robusto, dorso cinza escuro com escamas pequenas, ventre amarelado e dentes molariformes (BRITSKI et al., 2007).

É uma espécie amplamente distribuída no território brasileiro, podendo ser encontrada nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai, com maior distribuição nas planícies alagadas da região Centro-Oeste, no Pantanal do Mato Grosso (MENEZES; GHAZZI, 2007). Apresenta hábito alimentar onívoro com tendência a herbívoro e em meio natural possui dieta versificada como frutos, detritos orgânicos, crustáceos, moluscos e pequenos peixes, conforme região e época do ano (URBINATI; GONÇALVES, 2005).

A criação de peixes nativos vem crescendo significativamente na aquicultura nacional. Embora a tilápia seja a espécie dominante nos sistemas de cultivo, algumas espécies nativas destacam-se, como é o caso dos peixes redondos, pacu (*P. mesopotamicus*), pois possui potencial zootécnico que favorece sua produção em sistemas intensivos, como tamanho reduzido da cabeça, o que lhe confere maior rendimento de carcaça e especialmente de filé, e que apresenta aumento linear conforme aumenta a classe de peso dos peixes (BASSO; FERREIRA, 2011). Além disso, apresentam rápido crescimento e grande aceitação pelos consumidores em função de sua qualidade de carne (URBINATI; GONÇALVES, 2010). Adaptam-se a alimentação artificial e apresentam precocidade e rusticidade (BITTENCOURT et al., 2010; DIETERICH et al., 2013; SILVA-MACIEL et al., 2015).

Espécies nativas onívoras como o pacu (*P. mesopotamicus*), entre outras, utilizam eficientemente o amido das dietas, possibilitando altas inclusões de carboidratos, sem prejudicar o desempenho e a saúde

(LOCHMANN; CHEM, 2009). Este fato é de grande importância, pois resultam em maior sustentabilidade da piscicultura, devido à menor dependência de alimentos de origem animal, como a farinha e o óleo de peixes. Estudos indicam que, entre as espécies nativas, o pacu apresenta alta capacidade de utilização de carboidratos na dieta, possivelmente devido a mecanismos eficientes no transporte de glicose para as células em nível de membrana. Em comparação com outras fontes de proteína vegetal, farelo de soja é o mais comum em dietas para diferentes espécies aquícolas devido ao seu elevado teor de proteínas e bom perfil de aminoácidos (EL-SAYED, 1999). A recomendação para a inclusão deste ingrediente em dietas para pacu é de 20% a 50% do total das rações (ABIMORAD; CARNEIRO, 2007; SIGNOR et al., 2010).

Em relação a representatividade em termos de produção, o Brasil registrou uma produção de 392,493 mil toneladas de peixes em 2013, e entre as espécies nativas, o pacu, umas das principais espécies cultivadas foi responsável por 13,653 toneladas da produção total, no qual o maior produtor foi o Estado do Mato Grosso com 5 mil toneladas, seguido pelo Mato Grosso do Sul, Goiás, Tocantins e São Paulo (IBGE, 2013).

## **2.2. ESTRESSE EM PEIXES**

O estresse pode ser definido como uma condição em que o equilíbrio do organismo, ou homeostase é perturbado, resultante da ação de estímulos intrínsecos denominados estressores (WENDEELAR-BONGA, 1997).

Por serem animais pecilotérmicos e de vida aquática, os peixes enfrentam constantes desafios, que vão desde os aspectos físico-químicos da água, conflitos entre os animais dominantes dentro da população, entre outros (BARTON, 1988; WEDEMEYER, 1996), que, na aquicultura, são somados as condições impostas pela produção, como, por exemplo, manejo, transporte e altas densidades de estocagem, podendo levar ao aparecimento de doenças e mortalidade dos animais.

Deste modo, para garantir a sobrevivência os peixes precisam encontrar meios de lidar com estes desafios, para superar as situações



desfavoráveis. As mudanças fisiológicas, hematológicas e imunológicas desencadeadas quando o peixe reage a desafios são comumente referidos como respostas ao estresse (WEDEMEYER et al., 1990).

As respostas ao estresse são divididas em três categorias: primária, secundária e terciária (MAZEAUD et al., 1977; WEDEMEYER; MCLEAY, 1981). As hormonais são as respostas primárias, mudanças nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos são as secundárias e as terciárias são o comprometimento do crescimento e aumento de doenças. Os indicadores mais utilizados na avaliação do estresse e que normalmente dão uma boa resposta são o cortisol plasmáticos (resposta primária) e a glicose (resposta secundária) (ROBERTSON et al., 1987; BARTON, 2000).

Os parâmetros que constituem o eritrograma, em especial o número de eritrócitos e a concentração de hemoglobina, respostas secundárias, refletem a capacidade de transporte de oxigênio do sangue, evidenciando a exigência de energia do animal em situação adversa (HOUSTON, 1997).

A elevação dos níveis de glicose plasmática e cortisol indicam a condição de estresse e a necessidade de energia para suportar a situação desfavorável. Este aumento tem origem glicogenolítica proveniente da ação dos corticosteróides e catecolaminas, um indicador confiável de estresse em peixes (MOMMSEN et al., 1999). Elevadas concentrações de cortisol podem causar gliconeogênese e glicogenólise no fígado, que resulta em hiperglicemia e ajuda a satisfazer este aumento de demanda de energia durante o estresse, permitindo que o organismo reaja ao agente estressor (IWAMA, 1998).

Como os eritrócitos são constituintes da série vermelha sanguínea e contém hemoglobina, cuja função é o transporte de oxigênio e gás carbônico no organismo, qualquer deficiência em número ou forma dos eritrócitos pode comprometer a oxigenação nos tecidos (RANZANI-PAIVA et al., 2004). Porém ao diminuir o número de eritrócitos em conjunto com o aumento do seu volume resulta em uma espécie de compensação para o transporte de oxigênio da hemoglobina (TAVARES-DIAS, 2002).

O hematócrito representa o percentual de glóbulos vermelhos em relação ao volume de sangue correspondente, e seu aumento pode ser relacionado a condições estressantes, entre outros (BARTON, 2000; BRANDÃO et al., 2006). Esse parâmetro pode, em parte, revelar o nível de

estresse a que os peixes estão submetidos, embora possa variar na presença de diferentes agentes estressantes (MARTINS et al., 2002), tais como os manejos de produção, doenças, alterações ambientais e desafios.

### **2.3. IMUNOESTIMULANTES**

Além do uso terapêutico contra infecções bacterianas, os antibióticos têm sido utilizados na produção animal como promotor de crescimento com intuito de melhorar o ganho de peso e a conversão alimentar (YOUSEFIAN; AMIRI, 2009). Porém, seu uso indiscriminado e em doses subterapêuticas provoca o desenvolvimento de resistência bacteriana, sendo crescente a restrição da utilização de antibióticos em todo o mundo, principalmente, como promotor de crescimento (LEVY; MARSHALL, 2004; SMITH; COAST, 2002).

Como alternativa aos antibióticos e quimioterápicos, os imunostimulantes vêm sendo estudados em dietas para peixes com resultados efetivos (REKIEL et al., 2007). Os imunostimulantes são capazes de melhorar os mecanismos de defesa de um organismo e podem ser uma substância química ou uma ação que aumenta os mecanismos de defesa não específicos e específicos (BRICKNELL; DALMO, 2005).

Os imunostimulantes podem ser classificados de acordo com sua fonte, que podem ser de origem bacteriana, derivados de algas, aditivos dietéticos, nutrientes, hormônios, entre outros (SAKAI, 1999). Entre os benefícios da utilização destes compostos, destaca-se o potencial de melhoria do mecanismo de defesa inata dos peixes antes e depois da exposição a um agente patogênico, sendo efetivo contra infecções bacterianas, virais e de parasitas, o que pode melhorar a saúde, o bem-estar animal e proporcionar melhor desempenho dos peixes produzidos (PAULSEN et al., 2001).

É crescente o interesse na aquicultura pelos imunostimulantes, devido ao contínuo estresse em que os peixes estão expostos nos sistemas de produção, sendo o seu uso interessante para reduzir danos relacionados ao manejo, além de ser uma opção de medida profilática (VOLPATTI et al., 1998), que podem beneficiar a aquicultura, principalmente nas fases iniciais de cultivo

(produção), quando os peixes estão mais susceptíveis a doenças (PORTZ, 2006).

O desequilíbrio dos organismos relacionado é um dos principais fatores responsáveis pelo aparecimento de doenças e, conseqüentemente, por níveis consideráveis de mortalidade na produção aquícola (OBA et al., 2009). Para melhor elucidar estas alterações, a hematologia é uma ferramenta importante para que se consiga melhor entender os mecanismos de resposta e defesa do organismo animal, buscando sua homeostase, bem estar e funcionamento, pois nesta situação espera-se o aumento na taxa de oxigênio circulante, bem como das células de defesa para o combate ao agente estressor, além de outros parâmetros sanguíneos (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014).

Diversos imunoestimulantes possuem arquitetura molecular composta por unidades de repetição de determinada porção, tal como  $\beta$ -glucanos em glicose e (desoxi) riboses no DNA/RNA e certas lipoproteínas. Tais padrões são abundantes em comunidades microbianas de procariotos e pode ser denominado como padrões moleculares associados a agentes patogênicos (PAMP), se eles iniciarem respostas inflamatórias (ADEREM; ULEVITCH, 2000).

Durante desagregação/degradação microbiana, inúmeros padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) podem ser liberadas, que iniciam respostas inflamatórias após a ligação do receptor, levando a ativação intracelular de transdutores de sinal e fatores de transcrição. A composição exata dos sinais de perigo lançados seria decisivo para a transcrição de genes de saída, levando a síntese e liberação de citocinas pró-inflamatórias (DALMO; BOGWALD, 2008).

Alguns estudos têm investigado a ação de imunoestimulante sobre o sistema imune inato de peixes brasileiros. O sistema inato (não específico) é representado pelo conjunto de respostas que compõe o primeiro mecanismo de defesa que protege o organismo contra infecções (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014; SECOMBES; WANG, 2012).

Os macrófagos, granulócitos e fagócitos, são as principais células do sistema imune de peixes, capazes de fagocitar e destruir agentes infecciosos (SAURABH; SAHOO, 2008).

As células sanguíneas como os monócitos, macrófagos, apresentam importância fundamental na defesa do organismo, pois participam em praticamente todas as reações imunes contra doenças e estresse nos peixes (SAKAI, 1991). Estas células são reforçadas pelo uso de imunostimulantes em dietas para peixes, estimulando o sistema imune e a resistência do organismo (LIM; WEBSTER, 2001).

De acordo com Anderson (1992), o uso de imunostimulantes em peixes não inclui somente promover melhorias e eficientes respostas imunológicas a agentes patogênicos, mas sim evitar os efeitos supressivos do estresse.

Para obter melhores efeitos do uso de imunostimulantes na imunidade dos peixes é preciso levar em consideração como será realizada sua administração, a dosagem e o regime alimentar para cada espécie (SAKAI, 1999).

#### **2.4. LEVEDURA (*Saccharomyces cerevisiae*)**

Os derivados de levedura e bactérias, dentre eles, lipopolissacarídeos como as glucanas, quitosanas, quitina presentes na parede celular de alguns fungos e oligossacarídeos são exemplos de substâncias imunostimulantes que vem sendo utilizadas na aquicultura (GU et al., 2011; SADO et al., 2014).

Como alternativa, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* tem recebido especial atenção, pois são organismos unicelulares, amplamente encontrados na natureza em cereais, frutas cítricas e vegetais, além de ser uma espécie de valor econômico, devido ao fato de algumas cepas serem utilizadas em muitos processos industriais na produção de fermentados (HISANO et al., 2007). As leveduras são capazes de atuar positivamente no sistema imunológico e na absorção de nutrientes no intestino anterior, atuando como um substrato seletivo para um determinado grupo de bactérias comensais benéficas (BAGNI et al., 2000).

Quase 75% do peso seco da parede celular das leveduras é representado pelos polissacarídeos, integrados por um complexo de  $\beta$ -(1,3) e  $\beta$ -(1,6)-D-glucano e quitina, mais componentes amorfos denominados

mananoproteínas. Enquanto os  $\beta$ -D-glucanos e a quitina são responsáveis pela rigidez da parede celular e definem sua forma, as mananoproteínas e sua porção de carboidrato  $\alpha$ -D-manano são responsáveis pelo reconhecimento e interações celulares, interações com o meio ambiente e determinam a especificidade imunológica de leveduras. Os dois principais polissacarídeos constituintes da parede celular das leveduras,  $\beta$ -D-glucanos e  $\alpha$ -D-manano tem sido recentemente reconhecidos como capazes de promover modulação do sistema imune de diversos organismos vivos, mediante interações específicas com diferentes células imunocompetentes (RODRIGUEZ et al., 2003).

São definidos como prebióticos ingredientes nutricionais não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando o crescimento ou atividade de uma ou mais bactérias benéficas do cólon, melhorando a saúde do seu hospedeiro (BUTOLO, 2002). Os componentes de  $\beta$ -glucano na levedura são capazes de induzir respostas imunes, pois, podem existir receptores de  $\beta$ -glucano em leucócitos, que induzem a sinalização de eventos intracelulares capazes de ativar as respostas imunes, indicando que a levedura não é um suplemento prebiótico, mas sim caracterizado como imunoestimulante para peixes (LI; GATLIN, 2003; RINGO et al., 2010).

Os glucanos podem ser diferenciados de outros polissacarídeos pela maneira na qual as moléculas de glicose estão ligadas. Geralmente, nos polissacarídeos, as moléculas de glicose estão unidas por ligações 1,4, enquanto que nos glucanos as ligações encontradas são 1,3 e 1,6 e assim, diferindo da conformação linear dos polissacarídeos, os glucanos apresentam estrutura especial, em forma de hélice e, é esta conformação exclusiva que é reconhecida pelo sistema imune, resultando na sua estimulação (ROBERTSEN et al., 1990).

## **2.5. USO DE MANANOLIGOSSACARÍDEO (MOS) EM DIETAS PARA PEIXES**

Na aquicultura, poucos trabalhos foram desenvolvidos em relação a utilização de mananoligossacarídeo (MOS) na dieta e seus efeitos no sistema imunológicos e desempenho. Genc et al. (2007) ao suplementar tilápias com

MOS nas proporções de 0, 1.5, 3.0, or 4.5 g MOS/kg por 75 dias, não verificaram efeito quanto ao desempenho zootécnico desses animais. Por outro lado, Denji et al. (2015) observaram que a suplementação com 1 g MOS/kg por 60 dias pode influenciar positivamente o desempenho, microbiota intestinal, composição corporal e algumas variáveis sanguíneas de juvenil de truta arco-íris.

De Carvalho et al. (2011) concluíram que a utilização de mananoligossacarídeos (MOS) por 70 dias em rações comerciais para peixes onívoros não afeta o desempenho zootécnico de alevinos de tilápia-do-nylo, no entanto, induz alterações morfométricas na mucosa intestinal desses animais. Da mesma forma, Schwarz et al. (2010) ao trabalharem com mananoligossacarídeos por 53 dias em dietas para juvenis de tilápia-do-nylo nas proporções de 0, 1, 2 e 3%, não observaram efeito ( $P>0,05$ ) dos níveis de inclusão de MOS sobre o ganho de peso, consumo alimentar, índice hepatossomático e rendimento de carcaça.

Os resultados obtidos por Dimitroglou et al. (2010) também demonstraram que o peso médio final, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica permaneceram inalterados pela suplementação de MOS (0%, 0,2% e 0,4%) por 9 semanas para dourada (*Sparus aurata*).

Salze et al. (2008) observaram que larvas de bijupirá, *Rachycentron canadum*, alimentadas com dietas suplementadas com 0,2% de MOS apresentaram vilos intestinais mais desenvolvidos (2,04  $\mu\text{m}$ ) quando comparados às que não receberam ração suplementada (1,18  $\mu\text{m}$ ).

O nível de 0,34% de mananoligossacarídeos (MOS) por 30 dias pode ser incluído em dietas para larvas de tilápias-do-nylo durante o período de masculinização para melhorar a morfologia da mucosa intestinal, promovendo aumento do comprimento do intestino, da altura das vilosidades e da densidade de vilos intestinais, proporcionando melhora na conversão alimentar dessa espécie (SCHWARZ et al., 2011).

Para o robalo europeu, *Dicentrarchus labrax*, a incorporação de MOS a 0,4% por 67 dias aumenta o crescimento, ativa o sistema imunitário e aumenta sua resistência à infecção bacteriana, onde, após desafio bacteriano por *Vibrio alginolyticus*, inoculados diretamente no intestino, um dos principais locais de

infecção em peixes, os autores observaram que após 48 horas os peixes do tratamento controle apresentaram o dobro de infecção quando comparados aos demais tratamentos com inclusão de MOS na dieta (TORRECILLAS et al., 2007).

A suplementação por dois meses com dieta contendo 4 e 6 g MOS/kg para robalo europeu tem efeito positivo em vários mecanismos relacionados com a eficiência da barreira protetora da mucosa no intestino e os resultados revelaram redução no deslocamento bacteriano no intestino dos peixes, maior produção de muco e aumento na atividade de lisozima, indicando o fortalecimento da mucosa na superfície do intestino, como defesa contra microorganismos patogênicos (TORRECILLAS et al., 2011).

Sado et al. (2014) ao suplementar juvenis de pacu com níveis crescentes (0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5 e 2,0 %) de inclusão de mananoligossacarídeos (MOS, ActiveMOS®) por 60 dias não encontraram efeitos prebióticos e capacidade de minimizar os efeitos do estresse sobre as variáveis hematológicas. Os mesmos autores também observaram que a suplementação não afetou o crescimento e a morfologia intestinal dos peixes.

Os estudos sobre a dose de administração e modo de ação do MOS ainda não são suficientemente esclarecedores, sendo observados resultados contraditórios. Contudo, é fundamental que se estabeleçam dados sobre bases fisiológicas, hematológicas e imunológicas de espécies nativas como o pacu *Piaractus mesopotamicus*, suplementadas com prebióticos, para melhor compreensão dos processos que governam seu desempenho produtivo, buscando a melhoria das práticas de manejo alimentar e aumento do rendimento da atividade produtora.

## **2.6. USO DE $\beta$ -GLUCANOS EM DIETAS PARA PEIXES**

$\beta$ -Glucanos são grupos de polissacarídeos de vários monômeros D-glicose agrupados pelas ligações  $\beta$ -glicosídicas, com solubilidade, viscosidade, massa molar e configuração tridimensional variável, onde suas formas mais ativas constituem monômeros D-glicose com ligação (1,3) e ligações com

cadeia lateral D-glicose na posição (1,6), que são suas formas insolúveis com maior atividade biológica (OOI; LIU, 2000; PARK et al., 2003).

Estudos têm comprovado a efetiva capacidade imunoestimulante dos glucanos na imunidade e resistência a doenças em peixes. Ortuño et al. (2003) observaram que a administração oral de glucano na dieta aumentou a resposta imune inata da dourada, *Sparus aurata*. O glucano tem ação protetora efetiva contra bactérias patogênicas como *Aeromonas hydrophila* (KWAK et al., 2003) e pode aumentar a taxa de crescimento específico (WANG et al., 2011).

Nos peixes, o  $\beta$ -glucano pode favorecer a estimulação dos mecanismos de defesa não específicos, pois, podem existir receptores de  $\beta$ -glucano em leucócitos, que induz a sinalização intracelular capazes de ativar as respostas imunes (RINGO et al., 2010), promovendo a ação da atividade fagocitária dos macrófagos e aumentando sua capacidade de defesa contra patógenos, além de incrementar a produção de proteínas líticas, como a lisozima, e de proteínas do sistema complemento (PAULSEN et al., 2001; GOPALAKANNAN; ARUL, 2010).

Resultados contraditórios também são observados na utilização dos  $\beta$ -glucanos em dietas para os organismos aquáticos. Chagas et al. (2013) observaram que a suplementação com  $\beta$ -glucano (0, 0,1, 0,2, 0,4 e 0,8%) por 60 dias para tambaquis não influenciou o desempenho produtivo. Whittington et al. (2005) suplementaram tilápias-do-nilo com 0, 50, 100 e 200 mg de  $\beta$ -glucano por 14 semanas e não observaram influências sobre o desempenho e sistema imune dos peixes após o período de administração do imunoestimulante.

Por outro lado, Gopalakannan e Arul (2010) ao suplementarem *Cyprinus carpio* com 1% de  $\beta$ -glucano por 60 dias observaram melhoria no sistema imune dos peixes após desafio bacteriano por *A. hydrophila* nos 30 e 60 dias de suplementação, além de aumentar a sobrevivência até 75 a 80 % para os animais que receberam suplementação em comparação ao controle.

Robalos foram alimentados com uma dieta complementar contendo 2% de  $\beta$ -1,3 /  $\beta$ -1,6-glucano por um período de 2 semanas a cada 3 meses, e a atividade da via complemento apresentou valores elevados em peixes que receberam o imunoestimulante em comparação ao grupo controle (BAGNI et al., 2000).



Em outro ensaio, a via alternativa de ativação do sistema complemento e a atividade de lisozima foram significativamente melhoradas após suplementação por 15 dias para robalos alimentados com 0,1 % de  $\beta$ -glucano na ração (BAGNI et al., 2005).

Sealey et al. (2008) ao substituírem a farinha de trigo por farinha de cevada na dieta de truta arco-íris em quantidades julgadas como baixas (38 g / kg), médios (52 g / kg) e altas (82 g / kg)  $\beta$ -glucano de cevada, respectivamente, para a porção de trigo (321 g / kg) da dieta; observou que não altera o ganho de peso, no entanto, após desafiar os animais com vírus causador de necrose hematopoiética, o produto aumenta a resistência à patógenos virais.

Carpas comuns (*Cyprinus carpio*) foram alimentadas por um período de 60 dias com rações suplementadas, sendo incorporadas  $\beta(1,3)$ -glucano e células interas da levedura (*Sacharomyces cerevisiae*). Os resultados deste estudo demonstrou que, em geral peixes alimentados com dieta  $\beta$ -glucano e levedura de cerveja melhorar a resistência e sobrevivência de *C. carpio* contra *A. hydrophila* em comparação com os peixes do grupo controle (GOPALAKANNAN; ARUL, 2010).

Os efeitos benéficos do  $\beta$ -glucano são relatados em diferentes espécies de peixes, contudo, são escassas as pesquisas que avaliam o potencial desses suplementos à base de glucanos em peixes nativos brasileiros.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Avaliar o efeito da suplementação com glucanos e mananos (Glucan-MOS<sup>®</sup>) em dietas para juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus*, sobre o desempenho, índices hematológicos, fisiológicos e imunológicos.

#### **3.2. Objetivos específicos**

Analisar o efeito da suplementação com glucanos e mananos em dietas para juvenis de pacu sobre o desempenho zootécnico;

Caracterizar os efeitos fisiológicos de animais alimentados com dietas contendo glucanos e mananos por meio de indicadores sanguíneos, glicose e cortisol plasmático;

Investigar os efeitos imunológicos de animais alimentados com dietas contendo glucanos e mananos por meio dos indicadores do sistema imune inato (atividade respiratória dos leucócitos e lisozima);

Examinar os efeitos hematológicos de animais alimentados com dietas contendo glucanos e mananos por meio da hematologia (hematócrito, hemoglobina, número de eritrócitos, contagem diferencial de leucócitos, contagem total de trombócitos e leucócitos);

Avaliar a resistência de pacus suplementados com glucanos e mananos após estresse por captura e posterior desafio bacteriano, por meio de indicadores sanguíneos.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles—fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 1-9, 2007.

ADEREM, A.; ULEVITCH, R. J. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. **Nature**, v. 406, n. 6797, p. 782-787, 2000.

ANDERSON, D. P. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. **Annual Review of Fish Disease**, v. 2, p. 281-307, 1992.

BAGNI, M.; ARCHETTI, L.; AMADORI, M., MARINO, G. Effect of Long-term Oral Administration of an Immunostimulant Diet on Innate Immunity in Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). **Journal of Veterinary Medicine, Serie B**, v. 47, n. 10, p. 745-751, 2000.

BAGNI, M.; ROMANO, N.; FINOIA, M. G.; ABELLI, L.; SCAPIGLIATI, G.; TISCAR, P. G.; MARINO, G. Short-and long-term effects of a dietary yeast  $\beta$ -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 18, n. 4, p. 311-325, 2005.

BARTON B. A. Endocrine and metabolic responses of fish to stress. *Int Assoc Aquat Anim Med Proc*, v.19, p.41-55, 1988.

BASSO, L.; FERREIRA, M. W. Efeito do peso ao abate nos rendimentos dos processamentos do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Agrarian**, v.4, n.12, p.134-139, 2011.

BELÉM-COSTA, A.; CYRINO, J. E. P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). **Scientia Agricola**, v.63, n.3, p.281-284, 2006.

BILLER-TAKAHASHI, J. D.; URBINATI, E. C. Fish Immunology. The modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n.3, p. 1484-1506, 2014.

BITTENCOURT, F., FEIDEN, A.; SIGNOR, A. A.; BOSCOLO, W. R.; LORENZ, E. K.; MALUF, M. L. F. Densidade de estocagem e parâmetros eritrocitários de pacus criados em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39 n. 11, p. 2323-2329, 2010.

BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A.; NEU, D. H.; DIETERICH, F. Sistema orgânico de produção de pescado de água doce. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13 n. 2, 2012.

BRICKNELL, I.; DALMO, R. A. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 19 n.5, p. 457-472, 2005.

BRITSKI, B.H.; SILIMONK. A; LOPES, Z. S. Peixes do Pantanal. (Manual de identificação). Brasília: Embrapa - SPI, Corumbá: Embrapa - CPAP, p.184, 2007.

BUTOLO, J.E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. Campinas: J. E. Butolo, 430p. 2002.

CARVALHO, J. V. D.; LIRA, A. D. D.; COSTA, D. S. P.; MOREIRA, E. L. T.; PINTO, L. F. B.; ABREU, R. D.; ALBINATI, R. C. B. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n 1, 2011.

CHAGAS, E. C.; PILARSKI, F.; SAKABE, R.; DE MORAES, F. R. Desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com  $\beta$ -glucano. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 8, p. 899-905, 2013.

CYRINO, J. E. P.; BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y., BORGHESI, R.; DAIRIKI, J. K. A piscicultura e o ambiente - O uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. supl. especial, p. 68-87, 2010.

CYRINO, J. E. P.; BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y., Borghesi, R.; Dairiki, J. K. A piscicultura e o ambiente—o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010.

DALMO, R. A.; BØGWALD, J.  $\beta$ -glucans as conductors of immune symphonies. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 25, n. 4, p. 384-396, 2008.

DENJI, K. A.; MANSOUR, M. R.; AKRAMI, R.; GHOBADI, S.; JAFARPOUR, S. A.; MIRBEYGI, S. K. Effect of Dietary Prebiotic Mannan Oligosaccharide (MOS) on Growth Performance, Intestinal Microflora, Body Composition, Haematological and Blood Serum Biochemical Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Juveniles. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 10, n. 4, p. 255, 2015.

DIETERICH, T. G.; POTRICH, F. R.; LORENZ, E. K.; SIGNOR, A. A.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W. R. Performance parameters of juvenile pacu fed at different

feeding frequencies in net cages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n.8, p. 1043-1048, 2013.

DIMITROGLOU, A.; MERRIFIELD, D. L.; SPRING, P.; SWEETMAN, J.; MOATE, R.; DAVIES, S. J. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, v. 300, n. 1, p. 182-188, 2010.

EL-SAYED, A. F. M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, v. 179, n. 1, p. 149-168, 1999.

GANGULY, S.; DORA, K. C.; SARKAR, S.; CHOWDHURY, S. Supplementation of prebiotics in fish feed: a review. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.23, n. 2, p. 195-199, 2013.

GENC M. A. E.; YILMAZ, E.; GENC, M.; AKTAS. Effects of dietary mannanoligosaccharides (MOS) on growth, body composition, intestine and liver histology of the hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). **The Israeli Journal of Aquaculture**, v. 59, p. 10-16, 2007.

GOPALAKANNAN, A; ARUL, V. Enhancement of the innate immune system and disease resistant activity in *Cyprinus carpio* by oral administration of  $\beta$ -glucan and whole cell yeast. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 6, p. 884-892, 2010.

GU, M.; MA, H.; MAI, K.; ZHANG, W.; BAI, N.; WANG, X. Effects of dietary  $\beta$ -glucan, mannan oligosaccharide and their combinations on growth performance, immunity and resistance against *Vibrio splendidus* of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 31, n. 2, p. 303-309, 2011.

HISANO, H., SILVA, M. D. P., BARROS, M. M., & PEZZATO, L. E. Levedura íntegra e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**; v. 28, n. 4, p. 311-318, 2007.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA . [2013]. Produção da pecuária municipal v.41. Disponível em: <[http://www .ibge .gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em: 22/10/2015.

KWAK, J. K.; PARK, S. W.; KOO, J. G.; CHO, M. G.; BUCHHOLZ, R.; GOETZ, P. Enhancement of the non specific defense activities in carp (*Cyprinus carpio*) and flounder (*Paralichthys olivaceus*) by oral administration of Schizophyllan. **Acta Biotechnologica**, v. 23, n. 4, p. 359-371, 2013.

LEVY, STUART B.; MARSHALL, BONNIE. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. **Nature medicine**, v. 10, p. S122-S129, 2004.

LI, PENG; GATLIN III, DELBERT M. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture**, v. 219, p. 681-692, 2003.

LOCHMANN, R.; CHEN, R. Effects of Carbohydrate-Rich Alternative Feedstuffs on Growth, Survival, Body Composition, Hematology, and Nonspecific Immune Response of Black Pacu, *Colossoma macropomum*, and Red Pacu, *Piaractus brachypomus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.40, n.1, p.33-44, 2009.

MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. (Ed.). Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. v. 1, Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007.

MOTA, R. A.; DA SILVA, K. P. C.; DE FREITAS, M. F. L.; PORTO, W. J. N.; DA SILVA, L. B. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multiresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

OBA, E. T.; MARIANO, W. D. S.; SANTOS, L. D. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá, p. 226-247, 2009.

OOI, VINCENT E.; LIU, FANG. Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. **Current Medicinal Chemistry**, v. 7 n. 7, p. 715-729, 2000.

ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M. A.; MESEGUER, J. The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 14, n. 2, p. 145-156, 2003.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE  $\beta$ -GLUCANO EM COGUMELO. **Cienc. Tecnol. Aliment**, v. 23, n. 3, p. 312-316, 2003.

PAULSEN, S. M.; ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, B. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast  $\beta$ -glucan and bacterial lipopolysaccharide. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 11, n. 1, p. 23-37, 2001.

PORTZ, L. Recentes Avanços na Imunonutrição de Peixes. In: SILVA-SOUZA, A.T. Sanidade de Organismos Aquáticos. Maringá: ABRAPOA. p. 229-236, 2006.

REKIEL, A.; WIECEK, J.; BIELECKI, W.; GAJEWSKA, J.; CICHOWICZ, M.; KULISIEWICZ, J.; BEYGA, K. Effect of addition of feed antibiotic flavomycin or prebiotic BIO-MOS on production results of fatteners, blood biochemical parameters, morphometric indices of intestine and composition of microflora. **Archives Tierzucht Dummerstorf**, v. 50, p. 172-180, 2007.

RINGO, E.; OLSEN, R. E.; GIFSTAD, T. Ø.; DALMO, R. A.; AMLUND, H., HEMRE, G. I.; BAKKE, A. M. Prebiotics in aquaculture: a review. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 117-136, 2010.

ROBERTSEN, B.; RØRSTAD, G.; ENGSTAD, R.; RAA, J. Enhancement of non specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. **Journal of Fish Diseases**, v. 13, n. 5, p. 391-400, 1990.

RODRIGUEZ, A.; CUESTA, A.; ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M. A.; MESEGUER, J. Immunostimulant properties of a cell wall-modified whole *Saccharomyces cerevisiae* strain administered by diet to seabream (*Sparus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 96, n. 3, p. 183-192, 2003.

SADO, R. Y.; BICUDO, A. J. A; CYRINO, J. E. P. Growth and intestinal morphology of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) fed dietary prebiotics (mannanoligosaccharides-MOS). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 3, p. 1517-1524, 2014.

SADO, R. Y.; BICUDO, A. J. A; CYRINO, J. E. P.. Hematología de juveniles de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) alimentado con raciones suplidas con mananoligosacáridos (MOS). **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 42, n. 1, p. 30-39, 2014.

SAKAI, M. Current research status of fish immunostimulants. **Aquaculture**, v. 172, n. 1, p. 63-92, 1999.

SALZE, G.; CRAIG, S. R.; SCHWARZ, M.; MCLEAN, E. Novel live feed enrichments beneficially impact digestive ontogeny in larval cobia *Rachycentron candadum*. **Aquaculture America**, n. 08, p. 337, 2008.

SAURABH, S.; SAHOO, P. K. Lysozyme: an important defense molecule of fish innate immune system. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 3, p. 223-239, 2008.

SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; MICHELATO, M.; GUALDEZI, M. C. Mananoligosacárido em dietas para juvenis de tilápias do Nilo. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 32, n. 2, p. 197-203, 2010.

SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALL, M. R. M.; GAUDEZ, M. C.; LIMA, P. A. G. Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 12, p. 2634-2640, 2011.

SEALEY, W. M.; BARROWS, F. T.; HANG, A.; JOHANSEN, K. A.; OVERTURF, K.; LAPATRA, S. E.; HARDY, R. W. Evaluation of the ability of barley genotypes containing different amounts of  $\beta$ -glucan to alter growth and disease resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 141 n. 1, p. 115-128, 2008.

SECOMBES, C. J.; WANG, T. The innate and adaptive immune system of fish. **Infectious Disease in Aquaculture: Prevention and Control**, v. 231, n. 3, p. 68, 2012.

SIGNOR, A. A.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A.; BITTENCOURT, F.; COLDEBELLA, A.; REIDEL, A. Proteína e energia na alimentação de pacus criados em tanques-rede1. **Rev. Bras. Zootec**, v. 39, n. 11, p. 2336-2341, 2010.

SILVA MACIEL, E.; SAVAY-DA-SILVA, L. K.; GALVÃO, J. A.; OETTERER, M. Atributos de qualidade do pescado relacionados ao consumo na cidade de Corumbá, MS. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 199-206, 2015.

SMITH, Richard D.; COAST, Joanna. Antimicrobial resistance: a global response. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 80, n. 2, p. 126-133, 2002.

TORRECILLAS, S.; MAKOL, A.; BENÍTEZ-SANTANA, T.; CABALLERO, M. J.; MONTERO, D.; SWEETMAN, J.; IZQUIERDO, M.S. Reduced gut bacterial translocation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 30, n.2, p. 674-681, 2011.

TORRECILLAS, S.; MAKOL, A.; CABALLERO, M. J.; MONTERO, D.; ROBAINA, L.; REAL, F.; IZQUIERDO, M. S. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 23, n. 5, p. 969-981, 2007.

URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F. D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Ed.) Espécies nativas para a piscicultura no Brasil. Santa Maria: Editora UFSM, p. 205-244, 2010.

WANG, X. J. Effects of dietary  $\beta$ -glucan, mannan oligosaccharide and their combinations on growth performance, immunity and resistance against *Vibrio splendidus* of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 31, p. 303-309, 2011.



WEDEMEYER G. A, BARTON B, MC LEAY D. Stress and acclimation. In: Schereck C, Moyle P. (Ed.). Methods for fish biology. Bethesda, MD: American Fisheries Society, 1990. p. 451-489.

WEDEMEYER G. A. Physiology of fish in intensive culture systems. New York: Chapman & Hall, 1996.

WENDEELAR BONGA S. E. The stress response in fish. *Physiol Rev*, v.77, p.591-625, 1997.

WHITTINGTON, R.; LIM, C.; KLESIOUS, P. H. Effect of dietary  $\beta$ -glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 248, n. 1, p. 217-225, 2005.

YAMAGUCHI, M. M.; DE SÁ BARRETO, L. E. G.; IGARASHI, M. A. Estratégias para o Desenvolvimento da Aquicultura no Brasil. UNOPAR. **Científica Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 7, n. 1, 2008.

YOUSEFIAN, M.; AMIRI, M. S. The review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. **African Journal of Biotechnology** v. 8, n. 25, p. 7313-7318, 2009.

## **CAPITULO 2 - DESEMPENHO, RESPOSTAS HEMATOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E IMUNOLÓGICAS DE PACUS ALIMENTADOS COM Glucan-MOS<sup>®</sup> SUBMETIDOS A ESTRESSE E DESAFIO POR *Aeromonas hydrophila***

### **Resumo**

Os imunoestimulantes têm sido avaliados em dietas para peixes, como alternativa para a substituição de antibióticos e quimioterápicos e têm apresentado resultados efetivos sobre o crescimento e mecanismos de defesa de peixes. O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a inclusão de Glucan-MOS<sup>®</sup>, derivado da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) sobre o desempenho e os índices hematológicos, fisiológicos e imunológicos. Foram utilizados 390 juvenis de pacu ( $63,88 \pm 3,72$ g), distribuídos aleatoriamente em 30 unidades experimentais com volume útil de 80L, em sistema de fluxo contínuo de água, temperatura controlada por termostato e aeração suplementar. As rações foram formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas com 26,0% PD e 3.200 kcal ED kg<sup>-1</sup>. O glucano e manano (Glucan-MOS<sup>®</sup>) foram adicionados à ração experimental nas porcentagens de 0,0; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8% e fornecidos aos animais por 30 dias. A suplementação de Glucan-MOS<sup>®</sup> a 0,1 % melhorou ( $p < 0,05$ ) o ganho de peso, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica em relação à ração controle. O grupo suplementado com 0,2% de Glucan-MOS<sup>®</sup> apresentou maior atividade respiratória de leucócitos e lisozimas ( $p < 0,05$ ) após desafio bacteriano, e tendência na redução do efeito do estresse relacionado à diminuição dos níveis de cortisol e glicose, quando comparado com o tratamento controle. Desse modo, a suplementação entre 0,1 a 0,2% de Glucan-MOS<sup>®</sup> por 30 dias, melhora o desempenho animal, e a resistência de pacus desafiados com *Aeromonas hydrophila*.

**Palavras chave:** imunoestimulante, desempenho, sistema imune, estresse.

## Abstract

The immunostimulants have been evaluated in fish diets, as alternative to replace antibiotics and chemotherapeutics with effective results on growth and fish defense mechanisms. The present study aimed to evaluate the inclusion of Glucan-MOS®, derived from yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell wall, in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles diets on the growth performance, and haematological, physiological and immunological indexes. Fish (n=390; 63.88±3.72g) were randomly distributed in 30 experimental units (80L), in a continuous water flow system, with controlled temperature and supplementary aeration. The diets were formulated to be isoprotein and isoenergetic with 26.0% PD and 3,200 kcal ED kg<sup>-1</sup>. The glucan and mannan (Glucan-MOS®) were added in the experimental diets 0,0; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8% and fed to animals for 30 days. The supplementation of 0.1% Glucan-MOS® improved (p<0.05) weight gain, feed conversion and protein efficiency ratio, in comparison to control treatment. The group supplemented with 0.2% Glucan-MOS® had higher leukocytes respiratory burst and lysozyme activity (p<0.05) after the bacterial challenge, and showed a trend to reduction of stress effect related to decrease in cortisol and glucose levels, when compared to the control. Thus, the supplementation of 0.1 to 0.2% Glucan-MOS® for 30 days improves growth performance and resistance of pacu challenged with *Aeromonas hydrophila*.

**Keywords:** immunostimulants; performance; immune system; stress.

## Introdução

O pacu *Piaractus mesopotamicus* é uma das principais espécies de peixes nativos produzidos no Brasil (IBGE, 2013). Esta espécie possui características zootécnicas favoráveis à produção, pois aceita bem a alimentação artificial, possui rusticidade, bom crescimento, apreciado pelos consumidores e qualidade de carne (ABIMORAD et al., 2007).

Na produção intensiva, as altas densidades de estocagem, o fornecimento de grandes quantidades de ração e manejos rotineiros são problemas que conduzem às situações de estresse aos peixes, e que podem desencadear algumas enfermidades, que em muitos casos, provocam mortalidade dos peixes (SHRIMPTON et al., 2001).

Uma das alternativas para minimizar os problemas relacionados ao manejo intensivo e estresse é o uso de imunoestimulantes, tais como os derivados da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*). A parede celular de levedura é basicamente composta por glucanos e mananos, onde, a quantidade e proporção de frações de polissacarídeos na parede celular correspondem aos mananos 25,1% e aos glucanos 42,9% (CHAUD; SGARBIERI, 2006). Estes polissacarídeos são utilizados como promotores de crescimento e auxiliam na manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal, podendo também mitigar os efeitos do estresse, que pode ocasionar doenças em peixes (PATEL; GOYAL, 2012).

Estudos demonstram que os mananoligossacarídeos, quando adicionados à dieta, reduzem a colonização de bactérias patogênicas no organismo do animal (KIRON, 2012). Por outro lado, os glucanos atuam no aumento da atividade de macrófagos, na fagocitose por monócitos e neutrófilos, linfócitos e na produção de imunoglobulinas e lisozimas (RAA, 1996; SAKAI, 1999).

De acordo com Volpatti et al. (1998), os imunoestimulantes para peixes melhoram as respostas contra os agentes infecciosos, por meio da produção de células mediadoras de resposta imune (SIWICKI et al., 1993, VERLHAC et al., 1996). No entanto, os resultados das investigações sobre o uso destes aditivos em peixes são limitados e contraditórios (LI; GAITLIN, 2004).

O uso de imunostimulantes pode reduzir as perdas causadas por doença na aquicultura, entretanto, para seu uso eficaz na produção aquícola, o tempo, dosagens, método de administração e a condição fisiológica para cada espécie de peixe devem ser conhecidos (SAKAI, 1999).

Portanto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de mananos e glucanos (Glucan-MOS<sup>®</sup>) na dieta de juvenis de pacu, sobre o desempenho zootécnico, além de caracterizar os efeitos fisiológicos, imunológicos, hematológicos e a sua resistência ao estresse por captura e posterior desafio bacteriano.

## **Material e métodos**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sanidade de Peixes no setor de piscicultura da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul na Unidade Universitária de Aquidauana-MS. Os procedimentos experimentais do projeto foram aprovados pela Comissão de Ética do Uso de Animais – CEUA (UEMS), protocolo nº 014/2013.

### *Ingredientes e dietas experimentais*

As rações foram formuladas com base na proteína de origem vegetal, obtida do farelo de soja e trigo, sendo isoproteicas e isoenergéticas com 26% PD e 3.200 kcal ED kg<sup>-1</sup> (Tabela 1), segundo recomendações de Abimorad et al. (2004).

O Glucan-MOS<sup>®</sup> foi adicionado à ração experimental nas porcentagens de 0,0; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8. Segundo informações do fabricante, este aditivo é composto por parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), contendo 12 % de mananos, 42 % de glucomananos, 30 % β-glucanos totais e 21,5 % de β-glucanos (1,3 e 1,6). O método utilizado para análise da composição do produto teve por princípio a hidrólise-TFE (72,5 % de ácido trifluoroacético), que neutraliza e determina a glicose e manose, descrito por método enzimático “Megazyme”, sendo os valores corrigidos a partir da perda de hidrólise para obter os polissacarídeos.

Na confecção das rações, os ingredientes foram moídos em moinho de faca com peneira de 0,5 mm, processadas na forma de grânulos com 2,5 mm e peletizadas em uma máquina de moer carne. As mesmas foram secas em estufa com ventilação forçada a 55°C por 24 horas e posteriormente armazenadas em refrigeração com temperatura média de -6°C.

### *Protocolo experimental*

Para o ensaio experimental foram utilizados 390 juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com peso de  $63,88 \pm 3,72$ g, distribuídos aleatoriamente em 30 caixas d'água de polietileno com volume útil de 80L, em sistema de fluxo contínuo de água, temperatura controlada por termostato (resistências 100 W/aquário) e aeração contínua.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos 0.0, 0.1, 0.2, 0.4 e 0.8% de inclusão do Glucan-MOS® na ração e seis repetições contendo 13 peixes por unidade experimental. Os peixes foram alimentados até aparente saciedade nos horários de 08:00, 12:00 e 16h30min, durante 30 dias. Ao final do período experimental, foi realizada a avaliação de desempenho zootécnico por meio das seguintes variáveis: GP - ganho de peso médio diário (g), CD - consumo diário de ração (g), CAA - conversão alimentar aparente, TCE - taxa de crescimento específico (g), TEP - taxa de eficiência proteica.

Durante o período experimental a qualidade da água foi monitorada diariamente no período da manhã, sendo mensurados o pH ( $6,30 \pm 0,04$ ) com auxílio de phmetro (Hanna-HI98127, Woonsocket, RI, Estados Unidos), o oxigênio dissolvido ( $7,13 \pm 0,89$ mg L<sup>-1</sup>) e a temperatura ( $25,34 \pm 0,91$  °C) com auxílio de oxímetro (Hanna-HI9146, Woonsocket, RI, Estados Unidos). Semanalmente, amostras de água foram coletadas para posterior análise de amônia total ( $0,02 \pm 0,01$  mg L<sup>-1</sup>) em kit comercial (Labcon Test, Camboriú, SC, Brasil). Os parâmetros de qualidade de água analisados, apresentaram valores considerado adequados para a espécie (URBINATI; GONÇALVES, 2005).

Após o período experimental os peixes foram submetidos à indução anestésica com eugenol 100 mg L<sup>-1</sup> para realização da pesagem e colheita de sangue. Inicialmente, para caracterizar o momento zero, dois peixes por

repetição foram utilizados para colheita sanguínea com o objetivo de designar sua condição antes do estresse e desafio bacteriano. Todos os peixes que já passaram por colheita sanguínea não voltaram para as unidades experimentais para todos os tempos seguintes de coleta. Posteriormente, com o objetivo de fragilizar os animais para posterior desafio bacteriano, onde, todos os peixes de cada unidade experimental sofreram estresse por perseguição seguida de captura e exposição ao ar por 5 minutos e trinta minutos após este estresse dois peixes por repetição foram amostrados para colheita sanguínea.

Logo após a colheita de 30 minutos do estresse, os peixes que restaram nas caixas foram desafiados com inoculação da bactéria *Aeromonas hydrophila*. A bactéria foi cultivada em meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI) na temperatura de 27°C por 48 horas. As colônias bacterianas foram diluídas em solução tampão fosfato (PBS) até se obter a concentração com densidade óptica de 0,8 nm. Com auxílio de seringas, 1 ml desta solução foi inoculada na base da nadadeira ventral direita de cada um dos peixes.

Consecutivamente mais dois peixes por repetição foram amostrados para colheita sanguínea nos momentos 3 horas, 6 horas e 24 horas após a inoculação da bactéria. Em todos os tempos de colheitas sanguíneas para estresse e posterior desafio bacteriano cada unidade experimental foram cuidadosamente cronometradas.

Ao fim, os peixes desafiados com bactéria foram observados durante 15 dias, onde, neste período os animais de todos os tratamentos foram alimentados com a ração controle, sem suplementação.

#### *Indicadores hematológicos, fisiológicos e imunológicos*

Para as análises hematológicas foram realizadas colheitas sanguíneas nos peixes por punção do vaso caudal, com auxílio de seringas e agulhas banhadas em EDTA a 3%.

De posse das amostras de sangue foram determinados o percentual de hematócrito pelo método de microhematócrito de Goldenfarb et al. (1971), hemoglobina pelo método de cianometahemoglobina de Collier (1944) e contagem de eritrócitos em câmara de Neubauer, após a diluição do sangue

em solução de formol citrato (1:200). Posteriormente foi calculada a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

Foram confeccionadas extensões sanguíneas em duplicata de cada animal, secas ao ar e coradas pancromicamente com May Grunwald-Giemsa-Wright para a contagem diferencial de leucócitos, contagem total de trombócitos e leucócitos.

Para análise fisiológica foi quantificado glicose no plasma pelo método do ponto final utilizando-se kit comercial colorimétrico, para tanto o plasma utilizado foi obtido a partir do sangue aliquoteado em microtubo de polietileno contendo antiglicolítico Glistab. O cortisol plasmático foi determinado pelo Kit DBC método de Elisa.

Uma alíquota de sangue heparinizado foi utilizada para a determinação da atividade respiratória dos leucócitos (burst respiratório), que seguiu o protocolo de Biller (2008). Este método consiste em determinar as espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas pelo burst respiratório por meio de ensaio colorimétrico baseado na redução do corante nitrobluetetrazolium (NBT), que dá origem a precipitados de material insolúvel com coloração azul escuro no interior do fagócito, denominados grânulos de formazan. Para determinar a quantidade do precipitado, 100  $\mu$ L (0,1 ml) de sangue heparinizado foi adicionado a 100  $\mu$ L de nitrobluetetrazolium (NBT) (0,1 ml), esta mistura foi homogeneizada e incubada por 30 min a 25°C. Após o período de incubação, 50  $\mu$ L da mistura foi diluída em 1000  $\mu$ L (1 ml) de N, N-dimetilformamida (DMF) e centrifugada a 3000 rpm durante 5 minutos. A densidade óptica da solução foi determinada por espectrofotometria em comprimento de onda em 540 nm.

A determinação da concentração e atividade de lisozima foi medida por meio da redução da densidade óptica verificada durante a lise da parede celular da bactéria *Micrococcus lysodeikticus* e baseia-se no método clássico de lisar uma suspensão da bactéria (SMOLELIS; HARTSELL, 1949). A determinação da concentração e atividade da lisozima foi realizada com soro de peixes de todo os tratamentos mantidos a 70°C negativos. A análise foi realizada por ensaio turbidimético, segundo Ellis (1990) e adaptada por Marzocchimac-Machado et al. (1999) e Abreu (2009).



## **Análise estatística**

Para a análise estatística dos resultados experimentais, foi aplicado o teste de normalidade e as médias foram submetidas análise de variância (ANOVA), e quando significativas foi aplicado o teste de Tukey a 5 % de significância. As análises foram realizadas no programa estatístico SAS (SAS, 2001).

## **Resultados**

Os juvenis de pacus alimentados com as rações suplementadas com 0,1% Glucan-MOS<sup>®</sup> apresentaram ( $P < 0,05$ ) maior ganho de peso, quando comparado aos tratamentos 0,0%; 0,2% e 0,8% de inclusão com Glucan-MOS<sup>®</sup>. Enquanto que o tratamento com 0,4% de inclusão não diferiu dos demais tratamentos (Tabela 2).

O consumo diário de ração não apresentou diferença ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos. Por outro lado, para conversão alimentar aparente o tratamento contendo 0,1% de Glucan-MOS<sup>®</sup> diferiu do controle (sem suplementação), porém, estes não apresentaram diferença ( $p > 0,05$ ) dos demais (Tabela 2).

Para taxa de crescimento específico não houve diferença significativa entre os tratamentos. Por outro lado, para a taxa de eficiência proteica, o tratamento com 0,1% de Glucan-MOS<sup>®</sup> diferiu do controle (sem suplementação), porém, estes não apresentaram diferença ( $p > 0,05$ ) dos demais tratamentos (Tabela 2).

Para a variável hematócrito (Tabela 3) não houve diferença entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) para todos os tempos de coleta. O número de eritrócitos também não diferiu entre os tratamentos para todos os tempos de coleta, no entanto, pode-se observar maiores valores nos tempos de 3, 6 e 24 horas após o estresse e desafio bacteriano nos tratamentos com a ração suplementada, quando comparado ao controle (Tabela 3).

A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos nos tempos zero, 30 minutos após estresse e nos tempos de 3 e 6 horas após estresse e desafio bacteriano. Apenas no tempo de 24 horas após o estresse e desafio bacteriano os tratamentos com

maior concentração de Glucan-MOS<sup>®</sup> (0,4 e 0,8 %) na ração apresentaram valores significativamente menores que o tratamento com 0,2% de inclusão e estes, não diferiram dos demais tratamentos (Tabela 3).

A concentração de hemoglobina apresentou diferença ( $p < 0,05$ ) no momento 30 minutos, após o estresse por perseguição seguida de exposição ao ar. Os animais que receberam 0,2% apresentaram maiores valores, que diferiu dos tratamentos com 0,4 e 0,8% e estes não diferiram dos demais tratamentos (Tabela 3). Para os demais tempos de coleta os níveis de inclusão com Glucan-MOS<sup>®</sup> não apresentaram diferença significativa.

No presente estudo, observou-se que após o estresse e desafio com a *A. hydrophila*, houve aumento no número de neutrófilos e monócitos no sangue (Tabela 5). O aumento de neutrófilos para o tratamento com 0,2 % de Glucan-MOS<sup>®</sup> foi diferente ( $p < 0,05$ ) do grupo controle (sem suplementação), no entanto, não diferiu dos demais tratamentos com inclusão do suplemento. No tempo de 24 horas após o estresse e desafio bacteriano os tratamentos com inclusão de 0,4% e 0,8% de Glucan-MOS<sup>®</sup> apresentaram aumento significativo de neutrófilos em relação ao grupo controle, não diferindo dos demais tratamentos.

Para o número de monócitos, os peixes que receberam 0,2% de Glucan-MOS<sup>®</sup> apresentaram aumento significativo em relação ao grupo controle, mas não diferiu do grupo que recebeu 0,8% de Glucan-MOS<sup>®</sup>, que não diferiu dos demais tratamentos no tempo 24 horas após estresse e desafio bacteriano. O número de linfócitos nos tratamentos que receberam a inclusão do Glucan-MOS<sup>®</sup> (0,1%, 0,2%, 0,4% e 0,8%) na ração apresentaram redução significativa nos tempos 30 minutos após estresse, 3 horas e 6 horas após estresse e desafio bacteriano em relação ao grupo que não recebeu suplementação. Já no tempo 24 horas após estresse e desafio, o grupo controle diferiu significativamente dos animais que receberam 0,1% de Glucan-MOS<sup>®</sup> e estes diferiram dos tratamentos com inclusão de 0,2%, 0,4% e 0,8% do imunostimulante, respectivamente.

Na contagem total de células (Tabela 4), foi observado aumento significativo dos leucócitos totais nos tratamentos que receberam 0,4% e 0,8% Glucan-MOS<sup>®</sup> na dieta nos tempos zero hora (antes de iniciar os estímulos de estresse), 3 horas após estresse e 6 horas após estresse e desafio

bacterianos. Para trombócitos, os peixes que receberam 0,4% e 0,8% de Glucan-MOS<sup>®</sup> apresentaram um aumento significativo destas células em relação aos demais tratamentos nos tempos 3 horas após estresse e 6 horas após estresse e desafio com a bactéria *A. hydrophila*.

Os valores de glicemia foram diferentes entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) em todos os tempos de coleta. O grupo controle (sem suplementação) apresentou aumento da concentração de glicose no plasma no momento zero, após o estímulo de estresse e após o desafio bacteriano em todos os tempos de coleta comparado aos tratamentos que receberam ração suplementada (Figura 1).

Os valores de cortisol para o grupo controle foi significativamente maior que os tratamentos que receberam suplementação no momento zero, após o estímulo de estresse e após o desafio bacteriano nos tempos 3 e 6 horas (Figura 2).

A atividade respiratória de leucócitos não apresentou valores significativamente diferentes entre os tratamentos no momento zero de coleta. Já para os tempos 30 minutos após o estresse por perseguição seguido por exposição ao ar e nos tempos 3, 6 e 24 horas após o desafio bacteriano o tratamento com 0,2% de Glucan-MOS<sup>®</sup> na dieta apresentou maior atividade de leucócitos e significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) do tratamento controle (Figura 3).

A concentração de lisozima sérica apresentou valores significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) nos tempos 3 e 6 horas após desafio bacteriano, sendo o grupo controle apresentando valores reduzidos em comparação aos tratamentos que receberam Glucan-MOS<sup>®</sup> na dieta (Figura 4).

A mortalidade observada após o desafio bacteriano foi de 30,77% de peixes mortos para o grupo controle; 7,69% para o tratamento com 0,2% de Glucan-MOS<sup>®</sup> e 7,69% para o tratamento com 0,8 de Glucan-MOS<sup>®</sup> na dieta. Para os demais tratamentos não foram observadas mortalidade.

## Discussão

No presente estudo, a suplementação de Glucan-MOS<sup>®</sup> a 0,1% na dieta de pacus proporcionou melhoras significativas para o ganho de peso e taxa de eficiência proteica. Estes resultados corroboram com os resultados obtidos para *Apostichopus japonicus* (BAI et al., 2013); tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus* (HISANO et al., 2007; WELKER et al., 2012; SELIM; REDA, 2014), que avaliaram a combinação de  $\beta$ -glucanos e MOS, e observaram melhora significativa para o desempenho e eficiência na utilização do alimento.

Por outro lado, a suplementação de  $\beta$ -glucano ou MOS, separadamente, não proporcionou efeito positivo no crescimento e não exerceu influência sobre os parâmetros de desempenho produtivo para tambaqui *Colossoma macropomum* (CHAGAS et al., 2013), pacu *Piaractus mesopotamicus* (SADO et al. 2008) e tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus* (WHITTINGTON et al., 2005; SHELBY et al., 2009; SADO et al., 2014).

De acordo com Reza et al. (2009), a variação dos resultados de desempenho entre os distintos estudos com glucanos e mananos podem estar relacionados com as diferenças na estrutura química do imunoestimulante, o processo para a obtenção do produto, origem, nível de inclusão na ração, além da idade dos peixes, espécie e condição experimental. Por outro lado, Sado et al. (2008) ressaltam que a ação dos polissacarídeos produzidos a partir de parede celular de levedura, varia de acordo com a complexidade estrutural e diferenças nos procedimentos de fermentação e tratamento do produto, o que pode causar diferenças nos resultados de desempenho.

Em relação ao desempenho produtivo, os mananos atuam indiretamente e podem melhorar o crescimento por meio da modulação da microbiota intestinal, aumentando a integridade das vilosidades e resistência às bactérias patogênicas, com o consequente aumento da eficiência da digestão e absorção (FERNANDEZ et al., 2002; ANDREWS et al. 2009; DIMITROGLOU et al., 2009). Já a suplementação com glucanos pode beneficiar o desempenho de peixes por meio da melhora no coeficiente de digestibilidade das rações, o que proporciona melhoras no ganho de peso e conversão alimentar (BURR et al., 2008).

Na aquicultura, os peixes são afetados por uma série de agentes estressantes, como captura para biometrias, confinamento, manuseio e transporte. Para se estabelecer práticas de manejo adequadas, a quantificação do estresse no qual o peixe é submetido durante a produção é fundamental (WEDEMEYER, 1997). O estresse foi determinado por Selye (1950) como a soma de todas as respostas fisiológicas ativadas pelo animal para manter ou restabelecer a homeostase, quando confrontados com situações adversas.

As respostas ao estresse são divididas em três categorias: primária, secundária e terciária (MAZEAUD et al., 1977; WEDEMEYER; MCLEAY, 1981). As hormonais são as respostas primárias, mudanças nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos são as secundárias e as terciárias são o comprometimento do crescimento e aumento de doenças. Os indicadores mais utilizados na avaliação do estresse são o cortisol plasmáticos (resposta primária) e a glicose (resposta secundária) (ROBERTSON et al., 1987; BARTON, 2000).

Os parâmetros que constituem o eritrograma, em especial o número de eritrócitos e a concentração de hemoglobina, respostas secundárias, refletem a capacidade de transporte de oxigênio do sangue, evidenciando a exigência de energia do animal em situação adversa (HOUSTON, 1997).

Como observado no presente estudo, estes parâmetros juntamente com a elevação dos níveis de glicose plasmática e cortisol indicam a condição de estresse desencadeada pela perseguição seguida da exposição ao ar e o desafio bacteriano, evidente no momento 3 horas após infecção e a necessidade de energia para suportar a situação desfavorável. Este aumento, no caso de estresse, tem origem glicogenolítica proveniente da ação dos corticosteróides e catecolaminas, um indicador confiável de estresse em peixes (MOMMSEN et al., 1999). Elevadas concentrações de cortisol podem causar gliconeogênese e glicogenólise no fígado, que resulta em hiperglicemia e auxilia no aumento da demanda de energia durante o estresse, permitindo que o organismo reaja ao agente estressor (IWAMA, 1998).

De acordo com Anderson (1992), o uso de imunoestimulantes em peixes também pode evitar os efeitos supressivos do estresse. Este efeito também foi observado no presente estudo, uma vez que os peixes que receberam glucanos e mananos na dieta apresentaram valores reduzidos de

glicose e cortisol após os estímulos, quando comparados ao grupo controle (sem suplementação). Nesse mesmo sentido, Welker et al. (2007) observaram níveis significativamente mais baixos de cortisol e lactato em bagres do canal suplementados com produtos comerciais a base de levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (composto por glucanos e mananos), utilizando as concentrações recomendadas pelo fabricante (Bio-Mos<sup>®</sup> do Aqua Grau e Levucell SB20<sup>®</sup>, 0,01%), e Caim et al. (2003) também observaram uma redução no cortisol mas não em glicose em resposta ao estresse em tilápia do Nilo alimentadas com 0,2% de glucanos na dieta.

Como os eritrócitos são constituintes da série vermelha sanguínea e contém hemoglobina, cuja função é o transporte de oxigênio e gás carbônico no organismo, qualquer deficiência em número ou forma dos eritrócitos pode comprometer a oxigenação nos tecidos (RANZANI-PAIVA et al., 2004). Porém, ao diminuir o número de eritrócitos em conjunto com o aumento do seu volume resulta em uma espécie de compensação para o transporte de oxigênio da hemoglobina (TAVARES-DIAS, 2002).

O hematócrito representa o percentual de glóbulos vermelhos em relação ao volume de sangue correspondente, e seu aumento pode ser relacionado a condições estressantes, entre outros (BARTON, 2000; BRANDÃO et al., 2006). Esse parâmetro pode, em parte, revelar o nível de estresse a que os peixes estão submetidos, embora possa variar na presença de diferentes agentes estressantes (MARTINS et al., 2002), tais como os manejos de produção, doenças, alterações ambientais e desafios.

De acordo com McDonald e Milligan (1997), o estresse provoca hemoconcentração em muitos peixes de água doce, observado pelo aumento no valor do hematócrito. Em contrapartida, *Labeo umbratus* mostrou redução no número de hematócrito após a captura e estresse de transporte (HATTINGH; VAN PLETZEN, 1974). Apesar da ausência de diferenças significativas neste parâmetro, entre os níveis iniciais e os níveis obtidos nas seguintes amostragens, ligeiras variações foram observadas durante o período de recuperação.

Os resultados do presente estudo comprovam a eficiência do uso de glucanos e mananos como imunoestimulante, uma vez que após os estímulos de estresse e infecção bacteriana os peixes que receberam 0,2% de inclusão

de Glucan-MOS<sup>®</sup> na dieta apresentaram maiores valores de lisozima, da atividade respiratória dos leucócitos, aumento dos números de monócitos e neutrófilos em comparação ao grupo controle, indicando imunoestimulação.

O efeito sinérgico entre MOS e  $\beta$ -glucanos também foram relatados por Ai et al. (2007), Gopalakannan e Arul (2010) e Bai et al. (2013), com melhores respostas sobre a ativação do sistema imune, com aumento significativo da atividade da lisozima no soro, aumento significativo dos glóbulos brancos, da atividade respiratória dos leucócitos e um aumento consistente dos neutrófilos, demonstrando que a combinação de mananos e glucanos em dietas parece potencializar os efeitos sobre a imunidade.

O aumento da atividade respiratória de leucócitos devido ao aumento da concentração de Glucan-MOS<sup>®</sup> na dieta indica que o imunoestimulante pode ter interagido com receptores de membranas de neutrófilos, monócitos e macrófagos, estimulando a produção destas células, como observado no presente estudo, melhorando sua capacidade de fagocitose. Essas células desempenham papel importante no mecanismo de defesa, quando ativados, degradam os microorganismos por fagocitose, pelo aumento do consumo de oxigênio molecular, processo conhecido como atividade respiratória ou burst oxidativo, com produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são altamente oxidantes e contribuem ativamente para destruição dos microorganismos (ABREU et al., 2009). O aumento na produção de EROs por esses granulócitos é considerado um dos indicadores da ativação do sistema imune não específico em peixes (BILLER-TAKAHASHI et al., 2013).

Os macrófagos possuem receptores específicos capazes de reconhecer os  $\beta$ -glucanos, onde, o uso deste, leva ao aumento da explosão respiratória dos leucócitos, que libera espécies reativas de oxigênio e a maioria destes, com atividade bactericida (ENGSTAD et al., 1993). Além disso, aumenta a capacidade de defesa dos peixes contra patógenos, estimulando os mecanismos de defesa não específicos e induzindo a atividade fagocitária dos macrófagos (PAULSEN et al., 2001; TORRECILLAS et al., 2007; GOPALAKANNAN; ARUL, 2010; TORRECILLAS et al., 2011).

Diversos estudos têm mostrado que, quando incorporado no alimento, MOS ou  $\beta$ -glucano aumenta a resistência à bactérias patogênicas em diferentes espécies de peixes (SAHOO; MURKHERJEE, 2002; KUMARI;

SAHOO, 2006; TORRECILLAS et al., 2007; WELKER et al., 2007). Os mananoligossacarídeos (MOS) agem na prevenção da colonização de bactérias patogênicas no trato digestório, promovendo a adsorção de agentes patogênicos, que podem colonizar o trato gastrointestinal, ligando-se aos açúcares manose na superfície do intestino, deste modo, ao fornecer uma rede de manose no complexo manano, os patógenos ligam-se à rede e são expelidos do sistema (SPRING et al., 2000). Estes anexos de manose desencadeiam a cascata do sistema complemento e à ativação do sistema imunológico (PETTERSON; BURKHOLDER, 2003), uma vez que, a proteção não específica contra patogênicos é mais importante do que a proteção específica, pois, é a primeira linha de defesa contra organismos invasores (BRICKNELL; DALMO, 2005).

A intensificação da produção preconiza sistemas com altas densidades de estocagem, fornecimento de altas quantidades de ração e diferentes tipos de manejos, que são críticos para o aumento e/ou ocorrência de doenças nos peixes. Na fase inicial, os animais são menos resistentes, e as consequências do estresse pelo manejo e susceptibilidade à doenças são maiores, podendo ocasionar grandes perdas por mortalidade. Os resultados do presente trabalho, permitem a adoção de estratégias de alimentação com rações contendo Glucan-MOS<sup>®</sup> em períodos anteriores a manejos intensivos, como biometria, seleção e vacinação. O período de 30 dias foi suficiente para proporcionar efeito imunoestimulante e tendência de minimizar os efeitos de estresse, além de melhorar o desempenho produtivo.

## **Conclusão**

A suplementação de 0,1% de Glucan-MOS<sup>®</sup> em rações para juvenis de pacu proporciona melhora no desempenho, enquanto que o nível de 0,2 % de Glucan-MOS<sup>®</sup> estimula o sistema imune não específico e apresenta tendência em diminuir o efeito do estresse em juvenis de pacu. Dessa forma, recomenda-se a suplementação entre 0,1 a 0,2% de Glucan-MOS<sup>®</sup> por 30 dias para juvenis de pacus visando melhor crescimento, mitigação do efeito do estresse, e incremento da resistência frente ao desafio com *Aeromonas hydrophila*.



## Referências Bibliográficas

ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Fecal collection methods and determination of crude protein and of gross energy digestibility coefficients of feedstuffs for pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Revista Brasileira de Zootecnia* 2004; v. 33, n 5, p. 1101-1109.

ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J.; URBINATI, E. C. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Research* 2007, v. 38, n. 1, p. 36-44.

ABREU, J.S.; MARZOCCHI-MACHADO, C.M.; URBACZEK, A.C.; FONSECA, L.M.; URBINATI, E.C. Leukocytes respiratory burst and lysozyme level in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Brazilian Journal of Biology* 2009, v. 69, n. 4, p. 1133-1139.

AI, Q.; MAI, K.; ZHANG, L.; TAN, B.; ZHANG, W.; XU, W.; LI, H. Effects of dietary  $\beta$ -1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Fish & Shellfish Immunology* 2007, v. 22, n. 4, p. 394-402.

ANDERSON, D. P. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases* 1992, v. 2, p. 281-307.

ANDREWS, S. R.; SAHU, N. P.; PAL, A. K.; KUMAR, S. Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. *Aquaculture research* 2009, v. 41, n. 1, p. 61-69.

BAI, N.; ZHANG, W.; MAI, K.; GU, M.; XU, W. Effects of continuous and alternate administration of  $\beta$ -glucan and mannan-oligosaccharide on the growth, immunity and resistance against *Vibrio splendidus* of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Aquaculture Research* 2013; v. 44, n. 10, p. 1613-1624.

BARTON, B. A. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. *North American Journal of Aquaculture* 2000, v. 62, n. 1, p. 12-18.

BILLER-TAKAHASHI, J. D.; TAKAHASHI, L. S.; SAITA, M. V.; GIMBO, R. Y.; URBINATI, E. C. Leukocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Brazilian Journal of Biology* 2013; v. 73, n. 2, p. 425-429.

BRANDÃO, F. R.; DE CARVALHO GOMES, L.; CHAGAS, E. C. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. *Acta Amazônica* 2006, v. 36, n. 3, p. 349-356, 2006.

BRICKNELL, I.; DALMO, R. A. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish & shellfish immunology* 2005, v. 19, n. 5, p. 457-472.

BURR, G.; HUME, M.; NEILL, W. H.; GATLIN III, D. M. Effects of prebiotics on nutrient digestibility of a soybean-meal-based diet by red drum *Sciaenops ocellatus* (Linnaeus). *Aquaculture Research* 2008, v. 39, n. 15, p. 1680-1686.

CHAGAS, E. C.; PILARSKI, F.; SAKABE, R.; DE MORAES, F. R. Desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com  $\beta$ -glucano. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2013, v. 48, n. 8, p. 899-905.

CHAUD, S. G.; SGARBIERI, V. C. Propriedades funcionais (tecnológicas) da parede celular de leveduras da fermentação alcoólica e das frações glicana, manana e glicoproteína. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2006, v. 26, n. 2, p. 369-379.

COLLIER, H.B. The standardizations of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal* 1944, v.50, p.550-552.

DIMITROGLOU, A.; MERRIFIELD, D. L.; MOATE, R.; DAVIES, S. J.; SPRING, P.; SWEETMAN, J.; BRADLEY, G. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout,(Walbaum). *Journal of animal science* 2009, v. 87, n. 10, p. 3226-3234.

ELLIS, A.E. Lysozyme assays. In: STOLEN, J.S. et al. (Ed.). *Techniques in Fish Immunology*. Fair Haven, NJ: SOS Publications, 1990. p. 101-104.

Engstad, R. E. Recognition of yeast cell wall glucan by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages. *Developmental and Comparative Immunology* 1993, v. 17, n. 4, p. 319-330.

FERNANDEZ, F.; HINTON, M.; GILS, B. V. Dietary mannan-oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to *Salmonella* Enteritidis colonization. *Avian Pathology* 2002, v. 31, n. 1, p. 49-58.

GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; Brosious, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal of Clinical Pathology* 1971, v. 56, n.1, p. 35-39.

GOPALAKANNAN, A.; ARUL, V. Enhancement of the innate immune system and disease-resistant activity in *Cyprinus carpio* by oral administration of

$\beta$ -glucan and whole cell yeast. *Aquaculture Research* 2010; v. 41, n. 6, p. 884-892.

HATTINGH, J.; VAN PLETZEN, a. J. J. The influence of capture and transportation on some blood parameters of fresh water fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 1974, v. 49, n. 3, p. 607-609.

HISANO, H.; SILVA, M. D. P.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Levedura íntegra e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 2007; v. 28, n. 4, p. 311-318.

HOUSTON, A. H. Review: are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health?. *Transactions of the American Fisheries Society* 1997, v. 126, n. 6, p. 879-894.

IBGE-INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA . [2013]. Produção da pecuária municipal v.41. Disponível em: <[http:// www .ibge .gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em: 22/10/2015.

IWAMA, G. K. Stress in fish. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1998, v. 851, n.1, p. 304-310.

KIRON, V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal Feed Science and Technology* 2012; v. 173, n. 1, p. 111-133.

KUMARI, J.; SAHOO, P. K. Non-specific immune response of healthy and immunocompromised Asian catfish (*Clarias batrachus*) to several immunostimulants. *Aquaculture* 2006, v. 255, n. 1, p. 133-141.

LI, P.; GATLIN, D. M. Dietary brewer's yeast and the prebiotic Grobionic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture* 2004; v. 231, n. 1, p. 445-456.

MARTINS, M. L.; MORAES, F. R.; FUJIMOTO, R. Y.; NOMURA, D. T.; FENERICK, JR. J. Respostas do híbrido tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 macho x *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 fêmea) a estímulos simples e consecutivos de captura. *Boletim do Instituto de Pesca* 2002, v. 28, p. 195-204,.

MARZOCCHI-MACHADO, C.M.; POLIZELLO, A.C.; AZZOLINI, A.E.; LUCISANO VALIM, Y.M. The influence of antibody functional affinity on the effector function involved in the clearance of circulating immune complexes anti-BSA IgG/BSA. *Immunological Investigations* 1999; v. 28, n. 2-3, p. 89-101.

McDONALD, G.; MILLIGAN, L. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: IWAMA, G.W. et al. (Ed.). *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge: University Press, 1997. cap.5, p.119-144.

MOMMSEN, T. P.; VIJAYAN, M. M.; MOON, T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 1999; v. 9, p. 211-268.

PATEL, S.; GOYAL, A. The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review. *3 Biotech* 2012; v. 2, n. 2, p. 115-125.

PATTERSON, J. A.; BURKHOLDER, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Journal of Poultry science* 2003, v. 82, n. 4, p. 627-631.

PAULSEN, S. M.; ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, B. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast  $\beta$ -glucan and bacterial lipopolysaccharide. *Fish & Shellfish Immunology* 2001, v. 11, n. 1, p. 23-37.

RAA, J. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. *Reviews in Fisheries Science* 1996; v. 4, n. 3, p. 229-288.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; SILVA-SOUZA, E. A. T. Hematologia de peixes brasileiros. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. S.; LIZAMA, M. A. P. (Ed.). *Sanidade de organismos aquáticos*. São Paulo: Editora Varela, 2004. cap. 4, p. 89-120.

REZA, A.; ABDOLMAJID, H.; ABBAS, M.; ABDOLMOHAMMAD, A. K. (2009). Effect of dietary prebiotic inulin on growth performance, intestinal microflora, body composition and hematological parameters of juvenile beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Journal of the World Aquaculture Society* 2009, v. 40, n. 6, p. 771-779.

ROBERTSON, L.; THOMAS, P.; ARNOLD, C. R.; TRANT, J. M. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and a disease outbreak. *The Progressive Fish-Culturist* 1987, v. 49, n. 1, p. 1-12.

SADO, R. Y.; BICUDO, A. J. A.; CYRINO, J. E. P. Growth and intestinal morphology of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) fed dietary prebiotics (mannan oligosaccharides-MOS). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 2014, v. 86, n. 3, p. 1517-1524.

SADO, R. Y.; BICUDO, Á. J. D. A.; CYRINO, J. E. P. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on

hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of the world Aquaculture Society* 2008, v. 39, n. 6, p. 821-826.

SAHOO, P. K.; MUKHERJEE, S. C. The effect of dietary immunomodulation upon *Edwardsiella tarda* vaccination in healthy and immunocompromised Indian major carp (*Labeo rohita*). *Fish & Shellfish Immunology* 2002, v. 12, n. 1, p. 1-16.

SAKAI, M. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 1999, v. 172, n. 1, p. 63-92.

SELIM, K. M.; REDA, R. M. Beta-glucans and mannan oligosaccharides enhance growth and immunity in Nile tilapia. *North American Journal of Aquaculture* 2015, v. 77, n. 1, p. 22-30.

SELYE, H. Stress and the general adaptation syndrome. *British medical journal* 1950, v. 1, n. 4667, p. 1383.

SHELBY, R. A.; LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; WELKER, T. L.; KLESZIUS, P. H. Effects of yeast oligosaccharide diet supplements on growth and disease resistance in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Aquaculture* 2009, v. 21, n. 1, p. 61-71.

SHRIMPTON, J. M.; ZYDLEWSKI, J. D.; MCCORMICK, S. D. The stress response of juvenile American shad to handling and confinement is greater during migration in freshwater than in seawater. *Transactions of the American Fisheries Society* 2001; v. 130, n. 6, p. 1203-1210.

SIWICKI, A. K.; ANDERSON, D. P.; RUMSEY, G. L. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1994; v. 41, n. 1, p. 125-139.

SMOLELIS, A.N.; HARTSELL, S.E. The determination of lysozyme. *Journal of Bacteriology* 1949.v.58, p.731-736.

SPRING, P.; WENK, C.; DAWSON, K. A.; NEWMAN, K. E. The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science* 2000; v. 79, n. 2, p. 205-211.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. D.; MARTINS, M. L.; SANTANA, A. E. (2002). Haematological changes in *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) with gill ichthyophthiriasis and saprolegniosis. *Bol Inst Pesca* 2002, v. 28, n. 1, p. 1-9.

TORRECILLAS, S.; MAKOL, A.; BENÍTEZ-SANTANA, T.; CABALLERO, M. J.; MONTERO, D.; SWEETMAN, J.; IZQUIERDO, M. Reduced gut bacterial

translocation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). *Fish & Shellfish Immunology* 2011, v. 30, n. 2, p. 674-681.

TORRECILLAS, S.; MAKOL, A.; CABALLERO, M. J.; MONTERO, D.; ROBAINA, L.; REAL, F.; IZQUIERDO, M. S. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish & Shellfish Immunology* 2007, v. 23, n. 5, p. 969-981.

URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F.D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Editora UFSM, 2005. 470p.

VERLHAC, V.; GABAUDAN, J.; OBACH, A.; SCHÜEP, W.; HOLE, R. Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 1996; v. 143, n. 2, p. 123-133.

VOLPATTI, D.; D'ANGELO, L.; JENEY, G.; JENEY, Z., ANDERSON, D. P.; GALEOTTI, M. Nonspecific immune response in fish fed glucan diets prior to induced transportation stress. *Journal of Applied Ichthyology* 1998; v. 14, n. 3-4, p. 201-206.

WEDEMEYER, G. A. Effect of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Ed.). *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge, Inglaterra: Cambridge University Press, 1997. p. 35-71. (Society for Experimental Biology Seminar Series, 62).

WEDEMEYER, G. A.; McLEAY, D. J. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: PICKERING, A. D. (Ed.). *Stress and fish*. London: Academic, 1981. p. 247-275.

WELKER, T. L.; LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; SHELBY, R.; KLESIUS, P. H. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *Journal of the World Aquaculture Society* 2007, v. 38, n. 1, p. 24-35.

WELKER, T. L.; LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; KLESIUS, P. H. Use of Diet Crossover to Determine the Effects of  $\beta$ -glucan Supplementation on Immunity and Growth of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 2012, v. 43, n. 3, p. 335-348.

WHITTINGTON, R.; LIM, C.; KLESIUS, P. H. Effect of dietary  $\beta$ -glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 2005, v. 248, n.1, p. 217-225.

Tabela 1. Formulação e composição bromatológica das rações experimentais.

Ingredientes	Níveis de glucanos e mananos (%)				
	0,0	0,1	0,2	0,4	0,8
Farelo de soja	44,70	44,80	44,80	44,90	45,00
Fubá de milho	31,72	31,45	31,29	30,87	30,08
Farelo de trigo	17,35	17,35	17,35	17,35	17,35
Óleo de soja	1,60	1,67	1,73	1,86	2,15
Fosfato bicálcico	3,37	3,37	3,37	3,37	3,37
Calcário	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Lisina	0,37	0,37	0,37	0,36	0,36
Metionina	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Cloreto e Sódio (NaCl)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Glucan-MOS®	0,00	0,10	0,20	0,40	0,80
Premix vitamínico e mineral <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
BHT <sup>2</sup>	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição química calculada e determinada					
Proteína Digestível (%) <sup>3</sup>	23,00	23,00	23,00	23,00	23,00
Proteína Bruta <sup>4</sup>	26,10	26,60	26,90	26,50	26,50
Energia Digestível (kcal/kg) <sup>3</sup>	3200,00	3200,00	3200,00	3200,00	3200,00
Extrato etéreo (%) <sup>4</sup>	2,19	2,75	2,32	2,87	3,15
Fibra bruta (%) <sup>4</sup>	3,92	3,86	4,07	3,64	3,52
Lisina (%) <sup>3</sup>	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64
Metionina (%) <sup>3</sup>	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Treonina <sup>3</sup>	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Cálcio (%) <sup>3</sup>	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05
Fósforo disponível (%) <sup>3</sup>	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Cinzas (%) <sup>4</sup>	7,10	7,11	7,31	7,40	7,16

<sup>1</sup>Suplemento mineral e vitamínico: (Composição/kg de ração) Selênio: 75,00 mg, ferro: 15g, cobre: 2.000,00 mg, cloreto de colina 125,00 g, manganês: 3750,00 mg, zinco: 20,00 g, ferro: 15,00, iodo: 125,00 mg, niacina: 7.800,00 mg, ácido fólico: 750,00 mg, ácido pantotênico: 3.750,00 mg, biotina: 125,00 mg, vitamina C 53,00 g, Iodo: 125,00 g, vitamina A: 2.000.000,00 UI I, vitamina D3, 500.000,00 UI, vitamina E 15.000,00 UI, vitamina K3, 1.000,00 mg, vitamina B1 2.500,00 mg, vitamina B2: 2.500,00 mg, vitamina B6: 2.000,00 mg, vitamina B12: 5.000,00 mg, <sup>2</sup> Butil-hidroxi-tolueno. <sup>3</sup>Valores calculados de acordo com Abimorad et al. (2004). <sup>4</sup>Valores determinados, segundo metodologia AOAC (2000).

Tabela 2. Desempenho zootécnico dos juvenis de pacu alimentados com dietas suplementadas com glucanos e mananos após 30 dias de experimento. Peso inicial (PI), ganho de peso (GP), consumo diário de ração (CD), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de eficiência proteica (TEP).

Parâmetros	Níveis de glucanos e mananos (%)				
	0,0	0,1	0,2	0,4	0,8
PI (g)	64,24±0,74 <sup>a</sup>	60,91±1,82 <sup>a</sup>	66,55±1,45 <sup>a</sup>	65,29±0,82 <sup>a</sup>	62,84±1,77 <sup>a</sup>
GP(g)	15,16±0,83 <sup>b</sup>	21,14±0,87 <sup>a</sup>	16,00±1,14 <sup>b</sup>	17,32±0,47 <sup>ab</sup>	16,81±1,01 <sup>b</sup>
CD (g)	33,21±1,00 <sup>a</sup>	33,26±1,19 <sup>a</sup>	30,81±0,54 <sup>a</sup>	31,44±0,82 <sup>a</sup>	32,91±0,35 <sup>a</sup>
CA	2,23±0,16 <sup>a</sup>	1,58±0,02 <sup>b</sup>	2,01±0,18 <sup>ab</sup>	1,82±0,06 <sup>ab</sup>	1,99±0,13 <sup>ab</sup>
TCE	4,02±0,01 <sup>a</sup>	3,96±0,03 <sup>a</sup>	4,05±0,02 <sup>a</sup>	4,03±0,01 <sup>a</sup>	3,99±0,03 <sup>a</sup>
TEP	1,78±0,15 <sup>b</sup>	2,44±0,04 <sup>a</sup>	2,01±0,19 <sup>ab</sup>	2,12±0,07 <sup>ab</sup>	1,96±0,12 <sup>ab</sup>

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05).



Tabela 3. Variáveis sanguíneas de pacus alimentados com diferentes níveis de glucanos e mananos antes e após o estresse por perseguição e exposição ao ar e nos tempos 3h, 6h e 24 h após desafio bacteriano.

		Níveis de glucanos e mananos (%)				
		0,0	0,1	0,2	0,4	0,8
		Hematócrito (%)				
Estresse	Antes	28±1,19 <sup>a</sup>	26±1,96 <sup>a</sup>	27±1,71 <sup>a</sup>	27±1,45 <sup>a</sup>	31±1,57 <sup>a</sup>
	Depois	29±0,43 <sup>a</sup>	26±1,74 <sup>a</sup>	27±1,52 <sup>a</sup>	27±1,86 <sup>a</sup>	29±1,29 <sup>a</sup>
Desafio Bacteriano	3 h	29±1,48 <sup>a</sup>	27±0,88 <sup>a</sup>	28±1,23 <sup>a</sup>	28±1,50 <sup>a</sup>	27±1,41 <sup>a</sup>
	6 h	27±0,73 <sup>a</sup>	25±1,07 <sup>a</sup>	27±0,97 <sup>a</sup>	26±0,76 <sup>a</sup>	27±1,10 <sup>a</sup>
	24 h	26±0,63 <sup>a</sup>	28±0,90 <sup>a</sup>	27±1,48 <sup>a</sup>	28±0,83 <sup>a</sup>	28±0,62 <sup>a</sup>
		CHCM (g/dL)				
Estresse	Antes	38,75±2,48 <sup>a</sup>	38,68±2,09 <sup>a</sup>	39,63±2,32 <sup>a</sup>	40,20±3,28 <sup>a</sup>	34,33±2,07 <sup>a</sup>
	Depois	40,33±4,12 <sup>a</sup>	39,02±6,01 <sup>a</sup>	55,82±5,17 <sup>a</sup>	39,05±4,03 <sup>a</sup>	49,06±6,41 <sup>a</sup>
Desafio Bacteriano	3 h	57,68±3,48 <sup>a</sup>	52,89±4,15 <sup>a</sup>	58,73±2,49 <sup>a</sup>	62,83±5,34 <sup>a</sup>	45,68±3,90 <sup>a</sup>
	6 h	58,10±4,30 <sup>a</sup>	56,19±3,30 <sup>a</sup>	54,03±4,56 <sup>a</sup>	49,67±3,76 <sup>a</sup>	53,63±4,73 <sup>a</sup>
	24 h	44,16±2,64 <sup>ab</sup>	37,81±2,36 <sup>ab</sup>	48,80±3,34 <sup>a</sup>	35,36±1,91 <sup>b</sup>	35,27±3,43 <sup>b</sup>
		Hemoglobina (g/dL)				
Estresse	Antes	10,35±0,33 <sup>a</sup>	10,76±0,92 <sup>a</sup>	12,66±1,03 <sup>a</sup>	12,62±0,55 <sup>a</sup>	10,34±0,43 <sup>a</sup>
	Depois	15,23±1,11 <sup>ab</sup>	15,06±0,62 <sup>ab</sup>	18,91±1,61 <sup>a</sup>	10,48±1,48 <sup>b</sup>	11,37±0,43 <sup>b</sup>
Desafio Bacteriano	3 h	16,23±1,51 <sup>a</sup>	15,98±1,87 <sup>a</sup>	16,75±0,88 <sup>a</sup>	18,99±1,35 <sup>a</sup>	13,91±0,87 <sup>a</sup>
	6 h	14,97±0,74 <sup>a</sup>	15,61±1,63 <sup>a</sup>	16,93±1,34 <sup>a</sup>	15,36±1,47 <sup>a</sup>	15,61±1,06 <sup>a</sup>
	24 h	12,32±0,67 <sup>a</sup>	10,88±0,73 <sup>a</sup>	11,35±0,52 <sup>a</sup>	10,37±0,49 <sup>a</sup>	13,15±0,33 <sup>a</sup>
		Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL)				
Estresse	Antes	2,38±0,15 <sup>a</sup>	2,39±0,24 <sup>a</sup>	2,29±0,23 <sup>a</sup>	2,81±0,33 <sup>a</sup>	2,57±0,23 <sup>a</sup>
	Depois	2,99±0,36 <sup>a</sup>	2,29±0,21 <sup>a</sup>	2,82±0,40 <sup>a</sup>	2,92±0,29 <sup>a</sup>	2,41±0,29 <sup>a</sup>
Desafio Bacteriano	3 h	2,87±0,15 <sup>a</sup>	2,88±0,40 <sup>a</sup>	3,08±0,24 <sup>a</sup>	3,92±0,25 <sup>a</sup>	3,75±0,34 <sup>a</sup>
	6 h	2,88±0,17 <sup>a</sup>	3,53±0,36 <sup>a</sup>	3,00±0,16 <sup>a</sup>	3,27±0,24 <sup>a</sup>	3,23±0,23 <sup>a</sup>
	24 h	2,95±0,18 <sup>a</sup>	3,03±0,34 <sup>a</sup>	3,18±0,31 <sup>a</sup>	3,35±0,17 <sup>a</sup>	3,27±0,33 <sup>a</sup>

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05).

Tabela 4. Contagem total de leucócitos e trombócitos de pacus alimentados com diferentes níveis de glucanos e mananos antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar e nos tempos 3h, 6h e 24 h após desafio bacteriano.

		Níveis de glucanos e mananos (%)				
		0,0	0,1	0,2	0,4	0,8
		Leucócitos totais ( $\mu\text{L}^{-1}$ )				
Estresse	Antes	8153±1591 <sup>b</sup>	7913±1390 <sup>b</sup>	11,608±2698 <sup>ab</sup>	18999±3333 <sup>a</sup>	13563±1889 <sup>ab</sup>
	Depois	12755±2292 <sup>a</sup>	8699±1698 <sup>a</sup>	17284±2352 <sup>a</sup>	13220±2163 <sup>a</sup>	11474±1501 <sup>a</sup>
Desafio bacteriano	3 h	6756±2356 <sup>bc</sup>	5452±1023 <sup>c</sup>	10810±579 <sup>abc</sup>	16656±2170 <sup>a</sup>	16096±3443 <sup>ab</sup>
	6 h	6453±1597 <sup>b</sup>	8910±995 <sup>b</sup>	9799±2348 <sup>ab</sup>	12731±544 <sup>ab</sup>	15319±1020 <sup>a</sup>
	24 h	7086±902 <sup>a</sup>	10536±1428 <sup>a</sup>	10256±2669 <sup>a</sup>	12829±2156 <sup>a</sup>	10060±1895 <sup>a</sup>
		Trombócitos totais ( $\mu\text{L}^{-1}$ )				
Estresse	Antes	24889±3622 <sup>a</sup>	22641±4200 <sup>a</sup>	26251±3448 <sup>a</sup>	38548±5333 <sup>a</sup>	29379±4763 <sup>a</sup>
	Depois	30551±5223 <sup>a</sup>	21820±3028 <sup>a</sup>	34619±2966 <sup>a</sup>	31043±1721 <sup>a</sup>	30828±7590 <sup>a</sup>
Desafio bacteriano	3 h	16508±1595 <sup>bc</sup>	12949±3884 <sup>c</sup>	24530±2938 <sup>bc</sup>	49301±4440 <sup>a</sup>	37898±8711 <sup>ab</sup>
	6 h	20311±3501 <sup>b</sup>	21604±859 <sup>b</sup>	27341±5776 <sup>ab</sup>	42244±5343 <sup>a</sup>	42344±5157 <sup>a</sup>
	24 h	23218±2106 <sup>a</sup>	27322±3398 <sup>a</sup>	29401±6499 <sup>a</sup>	40020±3514 <sup>a</sup>	27534±4777 <sup>a</sup>

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05).

Tabela 5. Contagem diferencial de leucócitos de pacus alimentados com diferentes níveis de glucanos e mananos antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar e nos tempos 3h, 6h e 24 h após desafio bacteriano.

		Níveis de glucanos e mananos (%)				
		0,0	0,1	0,2	0,4	0,8
		Linfócitos (%)				
Estresse	Antes	69,25±1,92 <sup>a</sup>	70,50±10,62 <sup>a</sup>	66,00±8,69 <sup>a</sup>	54,13±4,92 <sup>a</sup>	78,38±5,55 <sup>a</sup>
	Depois	41,13±2,78 <sup>a</sup>	9,38±2,15 <sup>b</sup>	8,13±1,39 <sup>b</sup>	7,50±2,70 <sup>b</sup>	7,63±2,13 <sup>b</sup>
Desafio bacteriano	3 h	30,38±2,37 <sup>a</sup>	4,00±2,13 <sup>b</sup>	3,13±1,39 <sup>b</sup>	0,88±0,88 <sup>b</sup>	1,88±1,88 <sup>b</sup>
	6 h	20,38±0,97 <sup>a</sup>	7,75±4,01 <sup>b</sup>	5,38±1,98 <sup>b</sup>	3,75±1,01 <sup>b</sup>	6,50±1,83 <sup>b</sup>
	24 h	30,25±3,68 <sup>a</sup>	19,50±1,29 <sup>b</sup>	6,13±0,92 <sup>c</sup>	5,63±1,16 <sup>c</sup>	6,38±1,78 <sup>c</sup>
		Neutrófilos (%)				
Estresse	Antes	11,50±0,87 <sup>a</sup>	8,63±4,72 <sup>a</sup>	15,75±4,56 <sup>a</sup>	18,75±3,37 <sup>a</sup>	9,63±7,90 <sup>a</sup>
	Depois	18,50±4,05 <sup>b</sup>	39,38±6,61 <sup>ab</sup>	44,13±6,56 <sup>a</sup>	39,25±4,61 <sup>ab</sup>	49,38±5,11 <sup>a</sup>
Desafio bacteriano	3 h	46,13±4,90 <sup>a</sup>	58,38±6,03 <sup>a</sup>	60,75±5,53 <sup>a</sup>	61,38±6,07 <sup>a</sup>	65,88±5,38 <sup>a</sup>
	6 h	58,00±7,21 <sup>a</sup>	63,13±7,75 <sup>a</sup>	67,50±4,03 <sup>a</sup>	73,50±6,37 <sup>a</sup>	70,13±4,99 <sup>a</sup>
	24 h	54,50±6,32 <sup>ab</sup>	63,63±0,80 <sup>ab</sup>	63,00±0,87 <sup>ab</sup>	72,13±3,53 <sup>a</sup>	73,13±2,49 <sup>a</sup>
		Monócitos (%)				
Estresse	Antes	16,50±0,87 <sup>a</sup>	17,75±5,13 <sup>a</sup>	14,75±3,92 <sup>a</sup>	24,00±3,25 <sup>a</sup>	11,25±3,11 <sup>a</sup>
	Depois	25,88±2,99 <sup>a</sup>	41,88±4,41 <sup>a</sup>	35,13±6,31 <sup>a</sup>	43,75±6,85 <sup>a</sup>	33,88±2,63 <sup>a</sup>
Desafio bacteriano	3 h	15,38±4,04 <sup>a</sup>	31,00±5,87 <sup>a</sup>	29,50±4,23 <sup>a</sup>	28,25±5,46 <sup>a</sup>	23,63±2,63 <sup>a</sup>
	6 h	16,25±4,12 <sup>a</sup>	23,25±5,82 <sup>a</sup>	22,13±3,94 <sup>a</sup>	14,50±6,03	16,75±3,23 <sup>a</sup>
	24 h	11,38±2,22 <sup>b</sup>	13,00±1,43 <sup>b</sup>	26,13±1,95 <sup>a</sup>	15,50±3,95 <sup>b</sup>	16,50±1,79 <sup>ab</sup>
		CGE (%)				
Estresse	Antes	2,75±2,01 <sup>a</sup>	3,13±1,42 <sup>a</sup>	3,50±0,91 <sup>a</sup>	3,13±1,48 <sup>a</sup>	0,75±0,60 <sup>a</sup>
	Depois	3,00±0,84 <sup>a</sup>	3,38±1,28 <sup>a</sup>	6,63±1,43 <sup>a</sup>	6,50±4,05 <sup>a</sup>	4,00±3,52 <sup>a</sup>
Desafio bacteriano	3 h	5,25±0,88 <sup>a</sup>	6,00±0,87 <sup>a</sup>	4,88±0,75 <sup>a</sup>	5,38±0,83 <sup>a</sup>	6,00±1,06 <sup>a</sup>
	6 h	2,88±1,13 <sup>a</sup>	5,25±2,75 <sup>a</sup>	4,13±1,74 <sup>a</sup>	7,63±2,07 <sup>a</sup>	4,88±0,72 <sup>a</sup>
	24 h	2,75±1,13 <sup>a</sup>	3,88±0,43 <sup>a</sup>	4,38±1,68 <sup>a</sup>	6,13±1,82 <sup>a</sup>	4,00±0,87 <sup>a</sup>

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05).

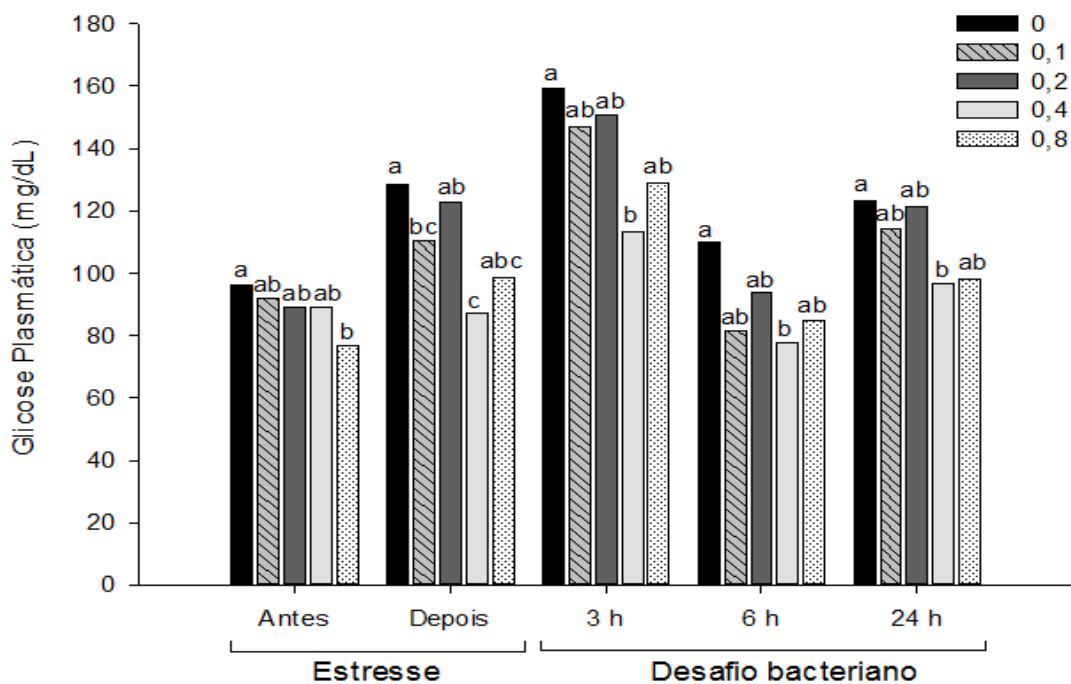


Figura 1. Glicemia de juvenis de pacu antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar, nos tempos 3, 6 e 24 horas após desafio bacteriano alimentados com rações suplementadas com glucanos e mananos. Letras indicam diferença entre os tratamentos, médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05).

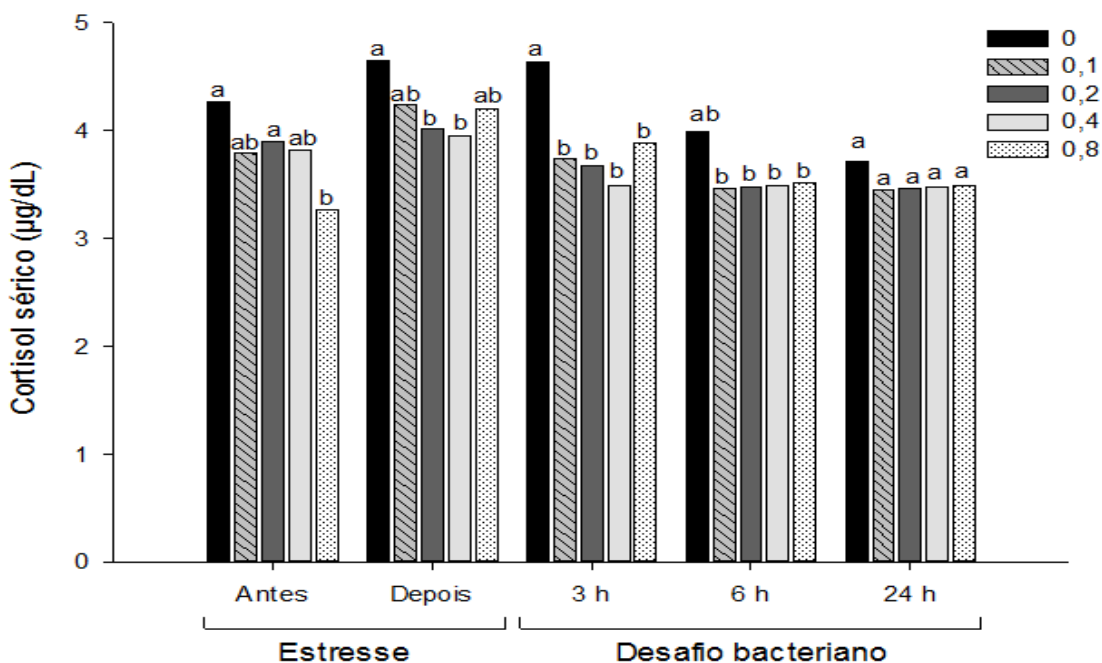


Figura 2. Concentração sérica de cortisol antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar, nos tempos 3, 6 e 24 horas após desafio bacteriano alimentados com rações suplementadas com glucanos e mananos. Letras indicam diferença entre os tratamentos, médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05).

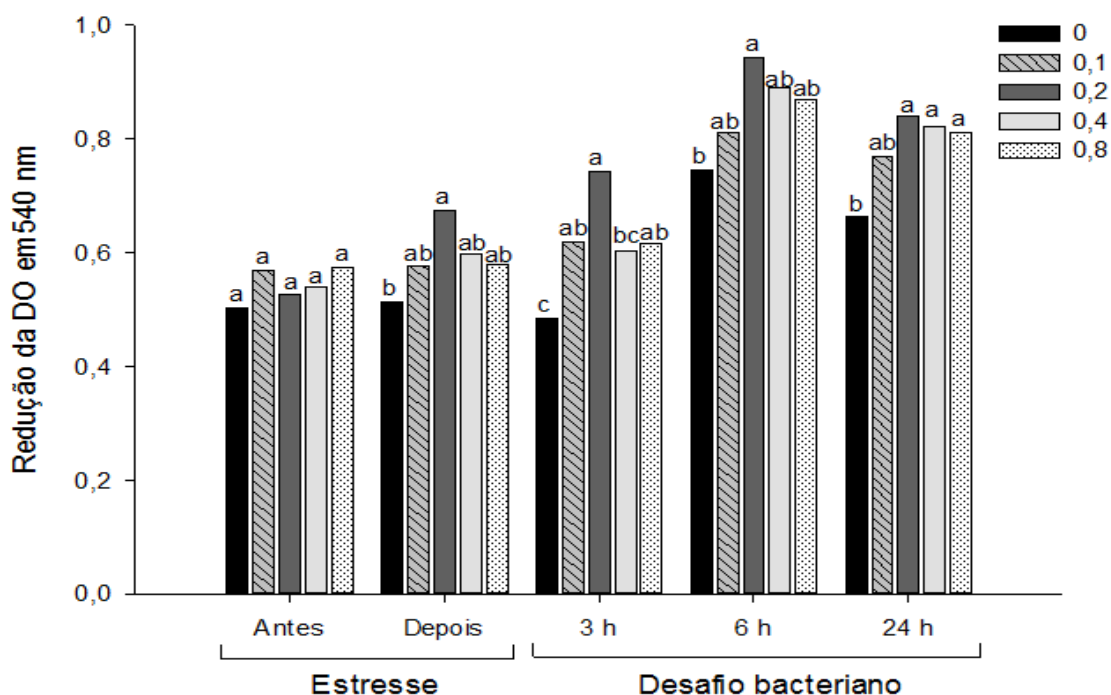


Figura 3. Atividade respiratória dos leucócitos antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar, nos tempos 3, 6 e 24 horas após desafio bacteriano para juvenis de pacu alimentados com rações suplementadas com glucanos e mananos. Letras indicam diferença entre os tratamentos, médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05).

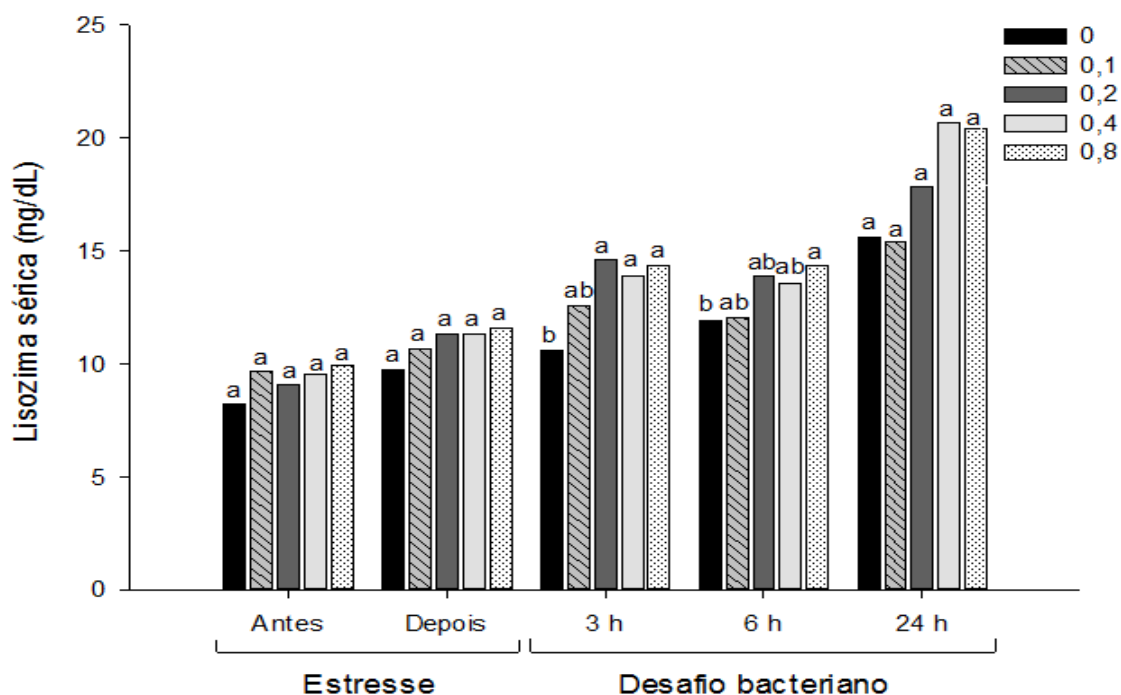


Figura 4. Concentração sérica de lisozima antes e após estresse por perseguição e exposição ao ar, nos tempos 3, 6 e 24 horas após desafio bacteriano para juvenis de pacu alimentados com rações suplementadas com glucanos e mananos. Letras indicam diferença entre os tratamentos, médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05).

### **CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A suplementação de glucanos e mananos (Glucan-MOS<sup>®</sup>) na dieta de juvenis de pacu apresentou efeito imunoestimulante e capacidade de minimizar os efeitos de estresse de manejo, proporcionando benefícios para o desempenho produtivo e estímulo sobre o sistema imune não específico dos peixes, sendo assim, capaz de atenuar, por exemplo, a alta mortalidade para a produção inicial, diminuindo as perdas econômicas e maximizando a produção.

O presente trabalho, por limitações financeiras, não conseguiu contemplar análises importantes como a caracterização da microbiota e morfologia intestinal do pacu, que são necessários para determinar os mecanismos de ação deste aditivo para a espécie estudada. Por outro lado, novas investigações devem ser incentivadas com períodos menores e maiores do que quatro semanas (média do tempo de suplementação da maior parte dos estudos com mananos e glucanos para peixes) para efetivamente concluir sobre a melhor relação custo/benefício.

Considerando as vantagens da suplementação de glucanos e mananos em dietas para pacus, novos segmentos de rações específicas para fase inicial podem ser explorados, uma vez que os peixes são menos resistentes, e as consequências do estresse pelo manejo e susceptibilidade à doenças são maiores, podendo ocasionar grandes perdas por mortalidade, sendo, a adoção de estratégias de alimentação em períodos anteriores à manejos intensivos uma alternativa para proporcionar efeito imunoestimulante e capacidade de minimizar os efeitos de estresse, além de melhorar o desempenho produtivo.

A utilização deste produto pode beneficiar a aquicultura, no entanto, para obter resultados efetivos na produção deve-se conhecer a condição fisiológica para cada espécie de peixe, o tempo e dosagem de suplementação e o método de administração.