

Desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com β -glucano

Edsandra Campos Chagas⁽¹⁾, Fabiana Pilarski⁽²⁾, Róberson Sakabe⁽²⁾ e Flávio Ruas de Moraes⁽³⁾

⁽¹⁾Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM-10, Km 29, Caixa Postal 319, CEP 69010-970 Manaus, AM. E-mail: edsandra.chagas@embrapa.br

⁽²⁾Universidade Estadual Paulista (Unesp), Centro de Aquicultura, Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/nº, CEP 14870-000 Jaboticabal, SP. E-mail: fabianap@caunesp.unesp.br, rsakabe@yahoo.com.br ⁽³⁾Unesp, Departamento de Patologia Animal. E-mail: fruas@fcav.unesp.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do imunostimulante β -glucano na dieta do tambaqui (*Colossoma macropomum*) sobre o desempenho produtivo, as respostas fisiológicas e imunológicas, e a resistência ao desafio com *Aeromonas hydrophila*. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5x2, com cinco níveis de β -glucano na dieta (0, 0,1, 0,2, 0,4 e 0,8%) e dois tempos de amostragem (antes e após o desafio com *A. hydrophila*), com três repetições. Os peixes (28,65±0,49 g; 12,14±0,07 cm) foram alimentados, por 60 dias, com dieta (28% de proteína bruta) suplementada com preparação comercial de β -glucano. Após o período de alimentação, avaliou-se o desempenho produtivo, e os peixes foram desafiados com *A. hydrophila*. Os parâmetros hematológicos e imunológicos (concentração e atividade de lisozima) foram avaliados antes e após o desafio bacteriano. Após o desafio bacteriano, observou-se a ocorrência de anemia normocítica-normocrômica. A suplementação com β -glucano não alterou a concentração nem a atividade da lisozima; porém, a menor concentração de β -glucano (0,1%) favoreceu maior sobrevivência para a espécie quando desafiada com *Aeromonas hydrophila*. A suplementação de β -glucano não exerce influência sobre o desempenho produtivo e nem sobre os parâmetros hematológicos do tambaqui.

Termos para indexação: *Aeromonas hydrophila*, *Colossoma macropomum*, imunostimulantes.

Productive performance and physiopathological responses of tambaqui fed with β -glucan enriched diet

Abstract – The objective of this work was to evaluate the effect of the immunostimulant β -glucan in tambaqui (*Colossoma macropomum*) diet on the productive performance, physiological and immunological responses, and the resistance to *Aeromonas hydrophila* challenge. The experiment was carried out in a completely randomized design in a 5x2 factorial arrangement, with five levels of β -glucan in the diet (0, 0.1, 0.2, 0.4, and 0.8%) and two sampling times (before and after challenge with *A. hydrophila*), with three replicates. Fish (28.65±0.49 g; 12.14±0.07 cm) were fed for 60 days with diets (28% crude protein) supplemented with commercial β -glucan preparation. After the feeding period, the productive performance was evaluated, and fish were challenged with *A. hydrophila*. Hematological and immunological parameters (concentration and activity of lysozyme) were determined before and after the bacterial challenge. After bacterial challenge, the occurrence of normocytic-normochromic anemia was observed. β -glucan supplementation did not change lysozyme concentration and activity; however, the lowest concentration of β -glucan (0.1%) favored higher survival rates for the species when challenged with *Aeromonas hydrophila*. β -glucan supplementation does not influence tambaqui productive performance and hematological parameters.

Index terms: *Aeromonas hydrophila*, *Colossoma macropomum*, immunostimulants.

Introdução

No Brasil, a criação de espécies nativas vem crescendo nos últimos anos e, no caso do tambaqui (*Colossoma macropomum*) – a espécie mais criada no Norte do país –, tem se expandido nas regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (Brasil, 2012).

O tambaqui apresenta excelente potencial para produção intensiva, principalmente pela fácil obtenção de juvenis, pelo bom potencial de crescimento (alcança 3 kg de peso após 12 meses em sistemas de viveiros/barragens), pela alta produtividade, pela resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido e pela excelente utilização de alimentos (Melo et al., 2001; Araújo-Lima &

Gomes, 2005). Contudo, uma das principais dificuldades relacionadas à sua criação intensiva é a ocorrência de doenças parasitárias e bacterianas (Malta et al., 2001), como a causada pela bactéria *Aeromonas hydrophila* em peixes de água doce (Pilarski & Sakabe, 2009).

Em razão da elevada ocorrência de doenças parasitárias e infecciosas, têm-se utilizado quimioterápicos e antimicrobianos na aquicultura. No entanto, o seu uso indiscriminado ocasiona problemas como o desenvolvimento de bactérias resistentes, a presença de resíduos de antibióticos nos tecidos de peixes comercializados e o impacto negativo no ambiente (Vivekanandhan et al., 2002; Taylor et al., 2011). Assim, o emprego de imunostimulantes na prevenção de doenças em peixes vem sendo priorizado (Dalmo & Bogwald, 2008).

Os imunostimulantes são substâncias biológicas que podem incrementar as respostas específicas e não específicas de defesa dos animais (Chagas et al., 2009; Ganguly et al., 2010). Os efeitos benéficos dos imunostimulantes consistem em aumentar a atividade de macrófagos, a fagocitose por neutrófilos e monócitos, e a produção de linfócitos, imunoglobulinas e lisozima, o que aumenta a resistência desses animais frente à infecção por organismos oportunistas (Gopalakannan & Arul, 2010). Entre estes compostos, destacam-se os glucanos.

Os glucanos são macromoléculas formadas por blocos de glicose unidos por meio de ligações β (1–3) e β (1–6), normalmente encontrados nas células de levedura e fungos. Nos peixes, o β -glucano pode favorecer a estimulação dos mecanismos de defesa não específicos, o que induz a atividade fagocitária dos macrófagos e aumenta 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).

Os efeitos benéficos do β -glucano são relatados em diferentes espécies de peixes (Dalmo & Bogwald, 2008; Sealey et al., 2008; Gopalakannan & Arul, 2010). Contudo, são escassas as pesquisas que avaliam o potencial desses suplementos à base de glucanos em peixes nativos brasileiros.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do imunostimulante β -glucano na dieta do tambaqui sobre o desempenho produtivo, as respostas fisiológicas e imunológicas, e a resistência frente ao desafio com *A. hydrophila*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos, no Centro de Aquicultura, da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, SP, entre março e junho de 2009.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5x2, com cinco níveis de β -glucano na dieta (0, 0,1, 0,2, 0,4 e 0,8%) e dois tempos de amostragem (antes e após o desafio com *A. hydrophila*), com três repetições.

Foram utilizados 225 juvenis de tambaqui (peso médio de $28,65 \pm 0,49$ g e comprimento total de $12,14 \pm 0,07$ cm), que foram aclimatados em 15 tanques de 310 L durante 30 dias e receberam ração comercial para peixes onívoros, com 28% de proteína bruta. Após esse período, os peixes foram alimentados com a dieta suplementada com preparação comercial de β -glucano (Betamune, Biorigin, São Paulo, SP) nas concentrações de 0, 0,1, 0,2, 0,4 e 0,8%. A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia até a saciedade aparente, durante 60 dias. Nesse período, os parâmetros de qualidade de água, como temperatura ($29,25 \pm 0,06^\circ\text{C}$) e oxigênio dissolvido ($6,30 \pm 0,02$ mg L⁻¹), foram monitorados três vezes por semana, por meio de monitor YSI 55 (YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, EUA). Quinzenalmente, foram avaliados: alcalinidade ($191,09 \pm 1,21$ mg L⁻¹), por titulação, conforme American Public Health Association et al. (1998); pH ($8,18 \pm 0,01$), com pHmetro Q400M2 (Quimis, Diadema, SP); e amônia total ($0,09 \pm 0,01$ mg L⁻¹), pelo método de endofenol (American Public Health Association et al., 1998).

Ao final do período de alimentação, com os peixes previamente anestesiados (100 mg L⁻¹ de benzocaína), realizou-se a análise biométrica para obtenção dos parâmetros de crescimento em peso (g) e comprimento total (cm), tendo-se calculado, a partir destes dados, o ganho de peso (peso final - peso inicial), a conversão alimentar aparente (alimento consumido/ganho de peso) e a sobrevivência (%).

Após a avaliação do desempenho produtivo, foi realizado o desafio bacteriano com 21 peixes de cada tratamento com β -glucano (sete por repetição), os quais foram inoculados por meio de injeção intraperitoneal de *A. hydrophila*, na concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC (protocolo nº 013985/09), determinada em ensaios preliminares. Durante os 15 dias do

ensaio, a cada 12 horas, foram registrados dados de mortalidade e a ocorrência de sinais clínicos de aeromonose.

A avaliação dos parâmetros hematológicos e imunológicos foi realizada antes e 15 dias após o desafio bacteriano com três peixes de cada repetição (nove peixes de cada tratamento). Para isso, com os peixes previamente anestesiados (100 mg L⁻¹ de benzocaína), procedeu-se à coleta sanguínea mediante a punção de vasos caudais com o auxílio de seringas sem anticoagulante, e o sangue foi separado em dois microtubos. Em um tubo, foi adicionada heparina para a determinação do hemograma, que incluiu a dosagem do percentual do hematócrito, pela técnica do microhematócrito (Goldenfarb et al., 1971); a dosagem da taxa de hemoglobina, pelo método da cianometahemoglobina (Collier, 1944); e a contagem de eritrócitos, por meio da diluição de 1:200 em solução de formol-citrato, tendo-se realizado a contagem em hemocitômetro. De posse desses dados, foram calculados os índices hematimétricos de Wintrobe (1934), compreendidos pelo volume corpuscular médio, pela hemoglobina corpuscular média e pela concentração de hemoglobina corpuscular média. No segundo tubo, não se adicionou anticoagulante para obtenção de soro, o qual ficou em temperatura ambiente por cerca de 2 horas para coagulação. O soro foi separado por centrifugação (3.000 g, 5 min), tendo sido armazenado a -70°C para determinação da concentração e da atividade da lisozima por ensaio turbidimétrico, segundo Ellis (1990), com adaptações.

Os resultados obtidos foram expressos como média±erro-padrão da média. As diferenças obtidas entre as médias dos diferentes tratamentos foram estabelecidas por análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A suplementação da dieta do tambaqui com β -glucano (0, 0,1, 0,2, 0,4 e 0,8%) por 60 dias não exerceu influência sobre os parâmetros de desempenho produtivo avaliados (peso e comprimento final, ganho de peso, conversão alimentar e sobrevivência). Apesar disso, o desempenho produtivo do tambaqui foi considerado satisfatório, em razão da escala experimental utilizada (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos para tilápia-do-nilo

(*Oreochromis niloticus*) e “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) alimentados com dietas suplementadas com β -glucano (Bagni et al., 2005; Whittington et al., 2005). Estes autores também não observaram aumento significativo no crescimento dos peixes após o período de administração do imunoestimulante.

Falcon (2007) avaliou a suplementação da dieta da tilápia-do-nilo com os mesmos níveis de β -glucano (0,1, 0,2, 0,4 e 0,8%) e com vitamina C (400 e 600 mg kg⁻¹ dieta), durante 60 dias, e constatou que a suplementação não teve influência no desempenho produtivo da espécie. Contudo, há estudos que descrevem o efeito benéfico do β -glucano sobre o desempenho produtivo dos peixes, principalmente quanto ao aumento da taxa de crescimento (Sealey et al., 2008; Dalmo & Bogwald, 2008). Lin et al. (2011), ao avaliar a espécie *Cyprinus carpio* koi, que recebeu dieta suplementada com β -glucano, relataram maiores valores de peso final e taxa de crescimento específico, mas não observaram diferença na sobrevivência.

O bom desempenho produtivo obtido para o tambaqui, independentemente do nível de suplementação do β -glucano, refletiu-se na manutenção do equilíbrio orgânico dos peixes, como determinado pela avaliação dos parâmetros hematológicos em 60 dias de criação (Tabela 2). No presente trabalho, a suplementação de β -glucano na dieta do tambaqui não promoveu alterações no hematócrito, na hemoglobina, no número de eritrócitos, no volume corpuscular médio, na hemoglobina corpuscular média e na concentração de hemoglobina corpuscular média após 60 dias de criação, e os valores encontrados estão dentro da faixa considerada satisfatória para peixes hípidos (Tavares-Dias et al., 2009).

Após o desafio com a bactéria *A. hydrophila*, verificou-se redução significativa nos valores de hemoglobina (0, 0,2, 0,4 e 0,8%) e hemoglobina corpuscular média (0,8%) (Tabela 2).

A bactéria *A. hydrophila* é o agente etiológico da septicemia hemorrágica. Portanto, nos tambaquis inoculados com essa bactéria, observaram-se, após as 24 horas iniciais da inoculação, petéquias hemorrágicas, distensão da cavidade abdominal por ascite, lesões ulcerativas na superfície do corpo, hemorragia nas nadadeiras e órgãos internos, coloração enegrecida e peixes isolados do cardume.

Com relação às alterações sanguíneas causadas pelo desafio com *A. hydrophila*, observou-se a ocorrência de anemia nos tambaquis, classificada em

normocítica-normocrômica (Lorenzi, 2006). De forma semelhante, houve redução nos valores de hematócrito após desafio bacteriano em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com β -glucano (Falcon, 2007; Biller, 2008). Esse quadro se deve à ocorrência de hemorragias provocadas por essa bactéria, que produz hemolisina, a causa mais comum de anemia hemolítica em peixes (Campbell & Ellis, 2007).

Alterações sanguíneas, como o quadro de anemia observado em tambaquis, também foram relatados em outros estudos. Garcia & Moraes (2009) desafiaram o pacu com a bactéria *A. hydrophila* e observaram, após 24 horas, a ocorrência de anemia normocítica-hipocrômica, além de redução dos níveis de proteínas totais e do número de trombócitos, leucócitos totais, linfócitos e eosinófilos, com aumento do número de neutrófilos e monócitos. De forma semelhante, em carpa comum (*Cyprinus carpio*) infectada com *A. hydrophila*, foi descrita diminuição de hematócrito, hemoglobina e número de eritrócitos,

acompanhada de leucocitose (Harikrishnan et al., 2003).

Também há relatos de efeitos negativos de altas doses e prolongada alimentação com β -glucano sobre a resposta imune dos peixes e a resistência a doenças (Couso et al., 2003). No presente trabalho, as maiores concentrações de β -glucano (0,4 e 0,8%) fornecidas na dieta do tambaqui por período prolongado (60 dias) também promoveram maior taxa de mortalidade após o desafio com *A. hydrophila* (Tabela 3), o que condiz com os estudos de Whittington et al. (2005), que mostraram que altas dosagens de β -glucano podem determinar a exaustão das células fagocíticas.

O fornecimento de dieta suplementada com β -glucano não alterou a taxa de mortalidade após o desafio bacteriano (Tabela 3). Em espécies nativas como o pacu, em que o nível de suplementação de 0,1% de β -glucano foi utilizado por sete dias, houve maior sobrevivência dos peixes quando desafiados com *A. hydrophila* (Biller, 2008). Kumari & Sahoo (2006) também relataram aumento da resistência de

Tabela 1. Parâmetros de desempenho produtivo de tambaquis (*Colossoma macropomum*) alimentados, durante 60 dias, com dietas suplementadas com β -glucano. Os dados são apresentados com média \pm erro-padrão da média⁽¹⁾.

Parâmetros	β -glucano (%)				
	0,0	0,1	0,2	0,4	0,8
Peso final (g)	78,78 \pm 2,85a	80,24 \pm 2,83a	86,66 \pm 3,74a	82,90 \pm 3,27a	90,39 \pm 4,23a
Comprimento final (cm)	15,96 \pm 0,18a	16,51 \pm 0,20a	16,72 \pm 0,24a	16,45 \pm 0,25a	16,14 \pm 0,28a
Ganho de peso (g)	52,17 \pm 2,66a	51,7 \pm 4,74a	58,8 \pm 5,99a	52,62 \pm 8,43a	59,58 \pm 3,40a
Conversão alimentar	2,13 \pm 0,15a	2,17 \pm 0,32a	2,03 \pm 0,15a	2,19 \pm 0,41a	1,9 \pm 0,06a
Sobrevivência (%)	100,00 \pm 0,00a	95,57 \pm 4,43a	100,00 \pm 0,00a	93,33 \pm 6,67a	100,00 \pm 0,00a

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não diferem entre pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Parâmetros hematológicos de tambaquis (*Colossoma macropomum*) após suplementação de β -glucano na dieta antes e após desafio com *Aeromonas hydrophila*⁽¹⁾.

Parâmetros ⁽²⁾	Tempo de amostragem	β -glucano (%)				
		0,0	0,1	0,2	0,4	0,8
Hematócrito (%)	Antes	28,13 \pm 1,53aA	31,22 \pm 2,38aA	29,00 \pm 4,09aA	31,00 \pm 4,22aA	33,71 \pm 3,92aA
	Após	25,56 \pm 1,84aA	23,33 \pm 2,52aA	25,00 \pm 2,60aA	25,22 \pm 1,95aA	21,78 \pm 2,30aA
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	Antes	7,54 \pm 0,52aA	7,51 \pm 0,67aA	7,71 \pm 0,51aA	7,86 \pm 0,41aA	7,75 \pm 0,35aA
	Após	5,09 \pm 0,56aB	6,33 \pm 0,51aA	5,29 \pm 0,67aB	6,41 \pm 0,47aB	5,19 \pm 0,50aB
Número de eritrócitos (10 ⁶ mm ⁻³)	Antes	2,16 \pm 0,21aA	2,48 \pm 0,32aA	2,17 \pm 0,25aA	2,69 \pm 0,45aA	2,49 \pm 0,27aA
	Após	1,81 \pm 0,19aA	1,84 \pm 0,22aA	1,72 \pm 0,19aA	2,14 \pm 0,26aA	2,06 \pm 0,20aA
VCM (μ m ³)	Antes	136,98 \pm 15,18aA	151,62 \pm 18,97aA	148,71 \pm 20,49aA	141,36 \pm 25,39aA	148,38 \pm 24,46aA
	Após	149,47 \pm 14,35aA	143,37 \pm 23,46aA	153,97 \pm 17,47aA	136,38 \pm 20,90aA	109,58 \pm 9,18aA
HCM (pg)	Antes	34,87 \pm 3,28aA	33,71 \pm 2,56aA	36,77 \pm 3,18aA	33,72 \pm 7,18aA	36,96 \pm 4,16aA
	Após	31,19 \pm 5,44aA	37,83 \pm 4,72aA	31,61 \pm 3,13aA	32,86 \pm 3,96aA	26,23 \pm 2,59aB
CHCM (%)	Antes	25,72 \pm 2,06aA	24,68 \pm 3,93aA	28,07 \pm 2,53aA	24,81 \pm 3,90aA	25,16 \pm 3,77aA
	Após	21,85 \pm 3,85aA	30,48 \pm 5,59aA	22,32 \pm 2,71aA	26,19 \pm 2,30aA	25,34 \pm 3,09aA

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; e CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média.

juvenis de “Asian catfish” (*Clarias batrachus*), após o desafio com *A. hydrophila*, quando alimentados com dieta suplementada com 0,1% de β -glucano.

Alguns estudos conduzidos com β -glucano em espécies de peixes sugerem que a administração de dietas suplementadas com este imunostimulante promove aumento da resistência contra infecções bacterianas e protozoárias (Kumari & Sahoo, 2006; Lauridsen & Buchmann, 2010). Este aumento na resistência a doenças nos peixes se dá, principalmente, pelo aumento dos mecanismos não específicos de defesa (Whittington et al., 2005), como por exemplo o aumento da atividade da lisozima (Paulsen et al., 2003).

A suplementação de β -glucano na dieta dos tambaquis por 60 dias promoveu aumento significativo na concentração e na atividade de lisozima dos peixes que receberam a suplementação de 0,2% de β -glucano, em comparação aos demais tratamentos, com exceção do tratamento de 0,1% de β -glucano (Tabela 4). Entretanto, todos os outros grupos apresentaram

valores de concentração e atividade de lisozima dentro do mesmo intervalo de variação (Tabela 4). Após a realização do desafio bacteriano, observou-se que a concentração e a atividade de lisozima não foram afetadas pelos níveis de suplementação de β -glucano na dieta do tambaqui. Os valores da concentração e da atividade de lisozima em tambaquis são próximos aos observados em espécies nativas, como o pacu (Biller, 2008). Outros autores constataram que os níveis de lisozima em truta arco-íris, tilápia-do-nilo e carpa comum não aumentaram após a suplementação alimentar com β -glucano (Whittington et al., 2005; Selvaraj et al., 2006; Sealey et al., 2008).

No entanto, há divergência quanto aos resultados de estudos que avaliam o uso de β -glucano como imunostimulante na criação de peixes. Essas divergências podem ser decorrentes dos diferentes métodos de administração, do nível e da duração da administração, da idade do peixe, além da variação intra e interespecífica (Dalmo & Bogwald, 2008; Sealey et al., 2008). Assim, há a necessidade de maior conhecimento dos efeitos do β -glucano na modulação do sistema imune em peixes nativos, com a avaliação de novos protocolos de administração, por períodos mais curtos e por aplicação intermitente, para proteger os peixes em períodos que antecedam manejos mais intensos na criação.

Conclusões

1. A suplementação de β -glucano na dieta do tambaqui (*Colossoma macropomum*) por 60 dias não exerce influência sobre o desempenho produtivo e os parâmetros hematológicos.

2. A suplementação com 0,2% de β -glucano promove alterações moderadas em parâmetros imunológicos (concentração e atividade de lisozima).

3. O desafio com a bactéria *Aeromonas hydrophila* provoca quadro de anemia normocítica-normocrômica nos tambaquis, em todos os tratamentos com β -glucano.

Agradecimentos

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), ao Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) (Projeto Aquabrazil) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pelo apoio financeiro.

Tabela 3. Mortalidade acumulada de tambaquis (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas suplementadas com β -glucano, por 60 dias, após desafio com *Aeromonas hydrophila*⁽¹⁾.

β -glucano (%)	Mortalidade (%)
0,0	19,05a
0,1	9,52a
0,2	14,29a
0,4	38,10a
0,8	38,10a

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Concentração e atividade de lisozima de juvenis de tambaquis (*Colossoma macropomum*) alimentados com dieta suplementada com β -glucano antes e após desafio com *Aeromonas hydrophila*⁽¹⁾.

β -glucano (%)	Concentração de lisozima ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		Atividade de lisozima (U mL^{-1})	
	Antes	Após	Antes	Após
0,0	0,18 \pm 0,01bA	0,24 \pm 0,04aA	30,64 \pm 1,56bA	39,70 \pm 5,64aA
0,1	0,23 \pm 0,03abA	0,23 \pm 0,02aA	39,14 \pm 5,20abA	38,24 \pm 3,41aA
0,2	0,36 \pm 0,06aA	0,22 \pm 0,01aA	58,98 \pm 9,77aA	36,57 \pm 2,02aA
0,4	0,20 \pm 0,02bA	0,26 \pm 0,03aA	34,59 \pm 2,49bA	43,67 \pm 4,74aA
0,8	0,19 \pm 0,02bA	0,22 \pm 0,02aA	32,70 \pm 3,34bA	37,54 \pm 0,01aA

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Referências

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. New York: American Public Health Association, 1998. 1050p.
- ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L. de C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. de C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2005. p.175-202.
- BAGNI, M.; ROMANO, N.; FINOLA, M.G.; ABELLI, L.; SACAPIGLIATI, G.; TISCAR, P.G.; SARTI, M.; 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 and Shellfish Immunology**, v.18, p.311-325, 2005. DOI: J.FSI.2004.08.003.
- BILLER, J.D. **Respostas fisio-patológicas e desafio por *Aeromonas hydrophila* em pacu alimentado com ração suplementada com 1,3 β-glucano**. 2008. 114p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**: Brasil 2010. Brasília: MPA, 2012. 128p.
- CAMPBELL, T.W.; ELLIS, C.K. **Avian and exotic animal hematology and cytology**. New York: Wiley-Blackwell, 2007. 287p.
- CHAGAS, E.C.; PILARSKI, F.; SAKABE, R.; MASSAGO, H.; FABREGAT, T.E.H.P. Suplementos na dieta para manutenção da saúde de peixes. In: TAVARES-DIAS, M. (Ed.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. p.132-225.
- COLLIER, H.B. Standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, v.50, p.550-552, 1944.
- COUSO, N.; CASTRO, R.; MAGARINOS, B.; OBACH, A.; LAMAS, J. Effects of oral administration of glucans on the resistance of gilthead seabream to pasteurellosis. **Aquaculture**, v.219, p.99-109, 2003. DOI: 10.1016/S0044-8486(03)00019-X.
- DALMO, R.A.; BOGWALD, J. β-glucans as conductors of immune symphonies. **Fish and Shellfish Immunology**, v.25, p.384-396, 2008. DOI: j.fsi.2008.04.008.
- ELLIS, A.E. Lysozyme assays. In: STOLEN, J.S.; FLETCHER, T.C.; ANDERSON, D.P.; ROBERTSON, B.S.; VAN MUISWINKEL, W.B. (Ed.). **Techniques in fish immunology**. [S.l.]: SOS publications, 1990. p.101-103. (Fish immunology technical communications, 1).
- FALCON, D.R. **Nível de suplementação de 1,3 β-glucano e vitamina C em dietas para tilápia do Nilo: desempenho produtivo e parâmetros fisiopatológicos**. 2007. 146p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- GANGULY, S.; PAUL, I.; MUKHOPADHAYAY, S.K. Application and effectiveness of immunostimulants, probiotics, and prebiotics in aquaculture: a review. **Israeli Journal of Aquaculture**, v.62, p.130-138, 2010.
- GARCIA, F.; MORAES, F.R. Hematologia e sinais clínicos de *Piaractus mesopotamicus* infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.31, p.17-21, 2009. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v31i1.308.
- GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v.56, p.35-39, 1971. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02368.x.
- GOPALAKANNAN, A.; ARUL, V. Enhancement of the innate immune system and disease-resistant activity in *Cyprinus carpio* by oral administration of β-glucan and whole cell yeast. **Aquaculture Research**, v.41, p.884-892, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02368.x.
- HARIKRISHNAN, R.; NISHA RANI, M.; BALASUNDARAM, C. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. **Aquaculture**, v.221, p.41-50, 2003. DOI: S0044-8486(03)00023-1.
- KUMARI, J.; SAHOO, P.K. Dietary β-1,3 glucan potentiates innate immunity and disease resistance of Asian catfish, *Clarias batrachus* (L.). **Journal of Fish Diseases**, v.29, p.95-101, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2006.00691.x.
- LAURIDSEN, J.H.; BUCHMANN, K. Effects of short- and long-term glucan feeding of rainbow trout (Salmonidae) on the susceptibility to *Ichthyophthirius multifiliis* infections. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v.40, p.61-66, 2010. DOI: 10.3750/AIP2010.40.1.08.
- LIN, S.; PAN, Y.; LUO, L.; LUO, L. Effects of dietary β-1,3-glucan, chitosan or raffinose on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio* koi). **Fish and Shellfish Immunology**, v.31, p.788-794, 2011. DOI: j.fsi.2011.07.013.
- LORENZI, T.F. **Manual de hematologia: propedêutica e clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 710p.
- MALTA, J.C. de O.; GOMES, A.L.S.; ANDRADE, S.M.S. de; VARELLA, A.M.B. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechinorhynchus buttnerae* Golvan, 1956, (Eoacanthocephala, Neoechinorhynchidae) em tambaquis jovens, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) cultivados na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, v.31, p.133-143, 2001.
- MELO, L.A.S.; IZEL, A.C.U.; RODRIGUES, F.M. **Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2001. 30p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 18).
- PAULSEN, S.M.; ENGSTAD, R.E.; ROBERTSEN, B. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast β-glucan and bacterial lipopolysaccharide. **Fish and Shellfish Immunology**, v.11, p.23-37, 2001. DOI: 10.1006/fsim.2000.0291.
- PAULSEN, S.M.; LUNDE, H.; ENGSTAD, R.E.; ROBERTSEN, B. *In vivo* effects of β-glucan and LPS on regulation of lysozyme activity and mRNA expression in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish and Shellfish Immunology**, v.14, p.39-54, 2003. DOI: 10.1006/fsim.2002.0416.

- PILARSKI, F.; SAKABE, R. Principais enfermidades diagnosticadas no Estado de São Paulo: profilaxia ou tratamento? In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO E SAÚDE DE PEIXES, 3., 2009, Botucatu. **Anais**. Botucatu: Unesp, 2009. p.101-130.
- SEALEY, W.M.; BARROWS, F.T.; HANG, A.; JOHANSEN, K.A.; OVERTURE, K.; LAPATRA, S.E.; HARDY, R.W. Evaluation of the ability of barley genotypes containing different amounts of β -glucan to alter growth and disease resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Animal Feed Science and Technology**, v.141, p.115-128, 2008. DOI: j.anifedsci.2007.05.022.
- SELVARAJ, V.; SAMPATH, K.; SEKAR, V. Adjuvant and immune stimulatory effects of β -glucan administration in combination with lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.114, p.15-24, 2006. DOI: j.vetimm.2006.06.011.
- TAVARES-DIAS, M.; ISHIKAWA, M.M.; MARTINS, M.L.; SATAKE, F.; HISANO, H.; PÁDUA, S.B. de; JERÔNIMO, G.T.; SÁ, A.R.S. de. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. In: SARAN NETO, A.; MARIANO, W. dos S.; SÓRIA, S.F.P. (Ed.). **Tópicos especiais em saúde e criação animal**. São Carlos: Pedro & João Editores, 2009. p.43-80.
- TAYLOR, N.G.H.; VERNER-JEFFREYS, D.W.; BAKER-AUSTIN, C. Aquatic systems: maintaining, mixing and mobilising antimicrobial resistance? **Trends in Ecology and Evolution**, v.26, p.278-284, 2011. DOI: j.tree.2011.03.004.
- VIVEKANANDHAN, G.; SAVITHAMANIA, K.; HATHAB, A.A.M.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India. **International Journal of Food Microbiology**, v.76, p.165-168, 2002. DOI: S0168-1605(02)00009-0.
- WHITTINGTON, R.; LIM, C.; KLESIUS, P.H. Effect of dietary β -glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v.248, p.217-225, 2005. DOI: j.aquaculture.2005.04.013.
- WINTROBE, M.M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, v.51, p.32-49, 1934.

Recebido em 26 de agosto de 2011 e aprovado em 24 de junho de 2013