



**CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM AQUICULTURA**

**LUCAS RICARDO GOMES BASTOS**

**PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE JUVENIS DE CARPA CAPIM**  
*(Ctenopharyngodon idella).*

**Uruguaiiana - RS**

**2015**

**LUCAS RICARDO GOMES BASTOS**

**PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE JUVENIS DE CARPA CAPIM**  
*(Ctenopharyngodon idella).*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura da Universidade Federal do Pampa como requisito parcial para obtenção do grau de Tecnólogo em Aquicultura.

Orientadora: Alessandra Sayuri Kikuchi  
Tamajusuku Neis

**Uruguaiana – RS**

**2015**

**LUCAS RICARDO GOMES BASTOS**

**PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE JUVENIS DE CARPA CAPIM**  
(*Ctenopharyngodon idella*).

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura da Universidade Federal do Pampa como requisito parcial para obtenção do grau de Tecnólogo em Aquicultura.

Aprovada em \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA:**

\_\_\_\_\_  
Alessandra Sayuri Kikuchi Tamajusuku Neis

\_\_\_\_\_  
Fabio de Araújo Pedron

\_\_\_\_\_  
Viviani Corrêa

Dedico este trabalho à minha família que sempre me deu apoio e me incentivou, aos amigos e colegas que sempre estiveram ao meu lado e aos professores por contribuírem na construção de todos os meus conhecimentos.

## **AGRADECIMENTO**

A todos que colaboraram com este trabalho, Shimelly Soares Rocha, Larissa da Cunha, Andressa Mariza Ribeiro Geraldo, Marjana dos Santos Cardoso, Rosane Bernini, Henrique Cezimbra, Bruno Pires, Alexandra Pretto e Cristiano Stefanello.

Aos Profs. Drs. Alessandra Sayuri Kikuchi Tamajusuku Neis, Fabio de Araújo Pedron, Viviani Corrêa, Priscila Becker Ferreira e Marcio Aquio Hoshiba pela orientação e pelo apoio para que eu realizasse esta pesquisa.

A minha namorada, Mariana Cadiñanos Desessards, que me auxiliou e me apoiou desde o início e nos momentos mais difíceis.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura.

## RESUMO

O uso indiscriminado dos promotores de crescimento (antibióticos) na alimentação animal pode ter resultado no desenvolvimento de populações bacterianas resistentes, determinando desequilíbrio na simbiose entre a microbiota desejável e o animal. Em contrapartida, os probióticos são microrganismos vivos, que em estado de latência (liofilizados), são adicionados ao alimento e beneficiam o desenvolvimento dos animais ao se instalarem no trato intestinal. Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do probiótico composto por *Bacillus subtilis* e *Bacillus cereus* em diferentes níveis sobre o crescimento e parâmetros hematológicos de juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). O experimento foi conduzido no laboratório de Aquariofilia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), em Uruguaiana/RS/Brasil. Foram utilizadas três doses do probiótico misturado diretamente à ração peletizada (T1 – Controle, T2 - 5g/Kg de ração, T3 - 10g/Kg de ração e T4 - 15g/Kg de ração), totalizando quatro tratamentos e 3 repetições, durante 56 dias. Antes do início do experimento, os 144 animais selecionados para este estudo foram divididos em 12 caixas d'água com 12 animais cada – com peso médio inicial de  $3,98 \pm 0,7g$  – onde foram aclimatados por 14 dias, alimentados com 3% do peso vivo ao dia. Também, foi realizado um total de cinco biometrias, a fim de avaliar os parâmetros zootécnicos dos animais. Ao final do experimento, foram determinados o hematócrito (%) e a quantidade de hemoglobina (g/L). Procedeu-se a análise de ANOVA seguida de Tukey para verificar as médias finais dos parâmetros zootécnicos e hematológicos ( $p < 0,05$ ). Os resultados obtidos indicaram que não houve diferença significativa para os parâmetros zootécnicos e não foi detectada diferença significativa nos resultados de hemoglobina. Somente nas análises de hematócrito, o T3 apresentou um aumento significativo em relação ao T1 e ao T2. Outros estudos são necessários, fornecendo o probiótico antes de situações de alto estresse ou períodos de incidência de doenças (ação preventiva), a fim de testar os efeitos benéficos do probiótico frente a um estímulo estressor.

**Palavras-chave:** aquicultura, trato intestinal, *Bacillus*, desempenho, hematologia.

## ABSTRACT

The indiscriminate use of the growth promoters (antibiotics) at the animal feeding can result in development of resistant bacterial populations, determining instability in the symbioses between the desirable microbiota and the animal. In contrast, probiotics are alive microorganisms, that in latency mode (lyophilized) are added to the food and that benefits the development of the animals when they settle at the intestinal tract. Therefore, the objective of this study was evaluate the effect of the probiotic with *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* in different amounts on the growth and hematological analysis of juveniles grass carp. The experiment was performed at the Aquariofilia Laboratory, on UNIPAMPA, Uruguaiiana, RS, Brazil. It was used three doses of the probiotic mixed directly to the pelleted feed (T1 – Control, T2 – 5g/kg of feed, T3 – 10g/kg of feed and T4 – 15g/kg of feed), totaling 3 (three) treatments and 3(three) repetitions, during 56 (fifty six) days. Before the beginning of the experiment, 144 animals selected for this study were divided into 12 water tanks with 12 animals each - with initial average weight of  $3.98 \pm 0.7$  g - where they were acclimated for 14 days, fed with 3% of body weight per day. As well, it was performed a total of five biometrics in order to assess the production data of the animals, among them, weight (g), total length (cm), survival rate (%), condition factor (%), average daily gain (g) and specific growth rate (%). At the end of experiment, it were measured the hematocrit (%) and the hemoglobin quantity (g/l). It was proceeded to ANOVA analysis followed by Tukey test to verify final means of production data and hematological parameters ( $p < 0.05$ ). The results indicated that there was no significant difference in the production data and it was not detected significant difference in the results of hemoglobin. Only in hematocrit analysis, T3 showed a significant increase compared to T1 and T2. Other studies are necessary, before providing the probiotic situations of high stress or periods of disease incidence (preventive action) in order to test the beneficial effects of probiotic against a stress stimulus.

**Keywords:** aquaculture, intestinal tract, *Bacillus*, performance, hematology.

## SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO .....	9
2	ARTIGO .....	11
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	25
4	REFERÊNCIAS .....	26
5	ANEXOS .....	28



## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

A carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) é uma espécie de água doce proveniente dos rios da China que tem muito prestígio entre os produtores devido a sua resistência e facilidade de cultivo, aceitação de alimentos peletizados, rápido crescimento e por ser uma fonte de proteína de alta qualidade (TRIPATHI; DATTA, 1990). A carpa capim vem sendo objeto de pesquisa nestes últimos anos devido a sua capacidade em controlar vegetação aquática. Na Ásia e nos países do leste europeu tem sido introduzida aos sistemas de policultivos com outras carpas para controlar as macrófitas (SHIREMAN, et al., 1977). Já no Brasil a carpa capim dentre as carpas chinesas está entre as espécies exóticas mais aplicadas em policultivo na região sul, qualificando-se por sua extrema rusticidade e excelente desempenho. Geralmente as carpas chinesas são criadas em sistema de policultivo (HAJRA, 1987), inclusive com espécies nativas, uma vez que espécies distintas apresentam diferentes hábitos alimentares, sendo a carpa capim herbívora, (CASTAGNOLLI, 1992). Portanto, apresenta crescimento rápido, bom aproveitamento de plantas, e tem carne de boa qualidade (VENKATESH et al., 1978).

Visando uma boa produção, Baldisseroto & Radünz Neto (2004) descrevem que além dos ingredientes nutritivos, os probióticos são utilizados com a finalidade de ocasionar uma ação benéfica à flora intestinal da espécie, proporcionando a redução da colonização intestinal por agentes patógenos. Parker (1974) descreveu como aditivos alimentares que apresentam efeito indireto e benéfico no hospedeiro, por atuarem na microbiota do trato digestivo. Jay (2002) diz que o termo probiótico se refere ao consumo de produtos que contêm organismos vivos, que se acredita serem benéficos para o consumidor. O objetivo é a ingestão de organismos que geralmente são constituídos por várias bactérias ácido lácticas ou bifidobactérias.

Jiraphocakul (1990) e Mulder (1991), utilizando o *Bacillus subtilis*, demonstraram o aumento do número de bactérias desejáveis presentes no trato digestivo de frangos, com sensível melhora na produção animal. Pollmann (1985) concluiu que o *Bacillus subtilis* foi capaz de diminuir os níveis de *Escherichia coli* e amônia no trato digestivo de suínos, com melhor digestão e absorção de nutrientes. Conforme Jatobá (2011), o fornecimento de probiótico na dieta dos peixes pode provocar imunoestimulação ocasionando um alerta/preparo para possíveis infecções;

portanto, seria recomendado fornecer o probiótico antes de situações de alto estresse ou períodos de incidência de doenças. Em peixes, são administrados oralmente e a suplementação é feita, em geral, nas rações (MOURIÑO, 2012).

A alternativa mais utilizada pelos piscicultores para coibir doenças causadas por bactérias é o uso de antibióticos, que eliminam indiscriminadamente bactérias benéficas ou patogênicas. Para Silva (2007), atualmente é inevitável a comparação entre probióticos e antibióticos, visando melhor crescimento, controle de transtornos digestivos e viabilidade econômica. De acordo com Cabello (2006) o emprego de antibiótico deve ser limitado, pois se utilizados de uma forma indiscriminada e abusiva podem acarretar no desenvolvimento de uma microbiota resistente, através da troca de plasmídeos de resistência em infecções cruzadas e inativação dos agentes antimicrobianos pelo pH da água. Para Schmidt (2000) a contaminação de fontes de água com resíduos de antibióticos, pode ser responsável por infecções de difícil tratamento e constituir um risco a saúde pública.

Através do estudo sanguíneo em suas características, podem-se obter informações sobre o estado geral do animal, como por exemplo, informações sobre a imunidade do animal e seu desempenho. Segundo Silveira (1989), conhecer os parâmetros hematológicos é fundamental para determinar a influência de dietas, doenças e situações de estresse ambiental. O hemograma é um exame que fornece informação sobre o número, morfologia e características dos eritrócitos (eritrograma) e dos leucócitos (leucograma) em uma amostra fresca de sangue sem coagular, é uma das análises de laboratório, mais frequentemente utilizada (NORO; WITTEWER, 2012).

Considerando os efeitos benéficos dos probióticos na nutrição de animais em cultivo, o objetivo desse trabalho foi testar diferentes concentrações dos probióticos *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*, incluídos na ração fornecida para juvenis de carpa capim, nos parâmetros zootécnicos e hematológicos.

## 2. ARTIGO

### **PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE JUVENIS DE CARPA CAPIM (*Ctenopharyngodon idella*).**

**PROBIÓTICOS E JUVENIS DE CARPA CAPIM (*Ctenopharyngodon idella*).**

**PROBIOTICS ON FEEDING OF JUVENILES GRASS CARP (*Ctenopharyngodon idella*).**

**PROBIOTICS AND JUVENILES GRASS CARP (*Ctenopharyngodon idella*).**

Bastos, L.R.G.<sup>1</sup>; Rosane, B.<sup>1</sup>; Marjana, dos S. C.<sup>1</sup>; Henrique, S.C.<sup>1</sup>; Andressa M. R. G.<sup>2</sup>; Larissa, da C.<sup>2</sup>; Shimelly S. R.<sup>3</sup>; Fabio, de A. P.<sup>4</sup>; Márcio A. H. <sup>4</sup> e Alessandra, S. K. T.<sup>4</sup>

---

<sup>1</sup> Acadêmico (a) do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, UNIPAMPA, Campus Uruguaiiana. Autor para correspondência. E-mail: lucas.unipampa.edu@gmail.com

<sup>2</sup> Mestranda do PPG em Ciência Animal, UNIPAMPA, Campus Uruguaiiana.

<sup>3</sup> M.a. do PPG em Ciência Animal, UNIPAMPA, Campus Uruguaiiana.

<sup>4</sup> Professor (a) Dr. (a) do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, Campus Uruguaiiana. E-mail: fabiopedron@unipampa.edu.br, tokudazoo@gmail.com, alessandratamajusuku@unipampa.edu.br

---

**RESUMO****PROBIÓTICOS EM JUVENIS DE CARPA CAPIM (*Ctenopharyngodon idella*).**

Os probióticos são microrganismos vivos, que em estado de latência, são adicionados ao alimento e beneficiam o desenvolvimento dos animais ao se instalarem no trato intestinal. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do probiótico composto por *Bacillus subtilis* e *Bacillus cereus* em diferentes quantidades sobre o crescimento e análises hematológicas de juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). O experimento foi conduzido no laboratório de Aquariorfilia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), em Uruguaiana/RS/Brasil. Foram utilizadas três doses do probiótico misturado diretamente à ração peletizada (T1 – Controle, T2 - 5g/Kg de ração, T3 - 10g/Kg de ração e T4 - 15g/Kg de ração), totalizando quatro tratamentos e 3 repetições, durante 56 dias. Antes do início do experimento, os animais foram aclimatados por 14 dias, os 144 animais selecionados para este estudo foram divididos em 12 caixas d'água com 12 animais cada – com peso médio inicial de  $3,98 \pm 0,7g$  – alimentados com 3% do peso vivo ao dia e as biometrias foram realizadas a cada 14 dias. Foram avaliados os parâmetros da água e zootécnicos. Para os parâmetros hematológicos foram determinados a taxa de hematócrito (%) e a hemoglobina (g/L) ao final do tratamento. Procedeu-se a análise de ANOVA seguida de Tukey para verificar as médias finais dos parâmetros zootécnicos e hematológicos ( $p < 0,05$ ). Os resultados obtidos indicaram que não houve diferença significativa para os parâmetros zootécnicos e não foi detectada diferença relevante nos resultados de hemoglobina. Somente nas análises de hematócrito ocorreu alteração significativa. Outros estudos são necessários, fornecendo o probiótico antes de situações de alto estresse ou períodos de incidência de doenças (ação preventiva), a fim de testar os efeitos benéficos do probiótico frente a um estímulo estressor.

**Palavras-chave:** aquicultura, trato intestinal, *Bacillus*, desempenho, hematologia.

**ABSTRACT****PROBIOTICS IN JUVENILES GRASS CARP (*Ctenopharyngodon idella*).**

The probiotics are alive microorganisms, that in latency mode (lyophilized) are added to the food and that benefits the development of the animals when they settle at the intestinal tract. The objective of this study was evaluate the effect of the probiotic with *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* in different amounts on the growth and hematological analysis of juveniles grass carp. The experiment was performed at the Aquariofilia Laboratory, on UNIPAMPA, Uruguaiana, RS, Brazil. It was used three doses of the probiotic mixed directly to the pelleted feed (T1 – Control, T2 – 5g/kg of feed, T3 – 10g/kg of feed and T4 – 15g/kg of feed), totaling 3 (three) treatments and 3(three) repetitions, during 56 (fifty six) days. . Before the beginning of the experiment, 144 animals selected for this study were divided into 12 water tanks with 12 animals each - with initial average weight of  $3.98 \pm 0.7$  g - fed with 3% of body weight per day and the biometries were performed every 14 days. It was evaluated the water parameters and production data as weight (g), total length (cm), survival rate (%), condition factor (%), average daily gain (g) and specific growth rate (%). For the hematological analysis, it was measured the hematocrit (%) and the hemoglobin (g/l). It was proceeded to ANOVA analysis followed by Tukey test to verify final means of production data and hematological parameters ( $p < 0.05$ ). The results indicated that there was no significant difference in the production data and it was not detected significant difference in the results of hemoglobin. Only in hematocrit analysis there was a significant change. Other studies are necessary, before providing the probiotic situations of high stress or periods of disease incidence (preventive action) in order to test the beneficial effects of probiotic against a stress stimulus.

**Keywords:** aquaculture, intestinal tract, Bacillus, performance, hematology.

## Introdução

A carpa capim, é uma espécie exótica amplamente utilizada na piscicultura brasileira em policultivo com outras carpas, caracteriza-se por sua rusticidade, desempenho satisfatório e grande aceitação no mercado consumidor (Soares et al., 1998). Sendo herbívora, possui um trato digestivo de 2 a 3 vezes o comprimento do corpo, sintetizando enzimas lipases, amilases e proteases, onde a celulose não sofre sua total degradação (Chilton & Muoneke, 1992). Na aquicultura, a suplementação com rações incrementa a produção de carpas herbívoras, podendo ser usada, ainda, alimentação com subprodutos (misturas) de grãos, farinhas e resíduos de culturas oriundos da propriedade (Mukhopadhyay & Kaushik, 2001).

O uso indiscriminado dos promotores de crescimento na alimentação animal desde o princípio da década pode ter resultado no desenvolvimento de populações bacterianas resistentes (Fuller, 1989), determinando desequilíbrio na simbiose entre a microbiota desejável e o animal (Mulder, 1991). Também alguns grupos de consumidores apresentam restrições ao consumo de carnes produzidas com rações contendo estes aditivos, portanto, é necessário que a pesquisa experimente, sob controle, os efeitos possíveis em animais aquáticos para posicionar-se e até indicar possíveis substitutos mantendo as ações benéficas e eliminando as indesejáveis (Graeff, 2002).

O conceito de probiótico surgiu a partir das observações de pesquisadores que sustentavam que mediante a ingestão de microorganismos benéficos era possível controlar os microorganismos patógenos e os estudos de exclusão competitiva. Estas observações se basearam nas variações da microflora intestinal ocasionada por fatores de stress como a temperatura, densidade de população, a alimentação artificial e o manejo, do qual se refletia nas perdas de apetite, enfermidades e baixo crescimento (Fox, 1988; Fuller, 1989). Outros autores utilizaram em Tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) (Flores et al., 2002; Castro e Cervon, 2004) e na carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Bogut et al., 1998), o probiótico como promotor de crescimento. Em aquicultura, o termo probiótico se define como um suplemento microbiano formado por um cultivo mono ou poli de microorganismos selecionados que são adicionados à dieta alimentar com o propósito de estimular as comunidades microbianas presentes nos sistemas de digestão. A estimulação microbiana é uma ferramenta viável para reduzir ou eliminar a incidência de microorganismos patógenos e também constitui uma alternativa para a substituição de agentes quimioterapêuticos na prevenção de enfermidades (Balcazar, 2002).

Segundo Gaggia et al. (2010), os probióticos são microrganismos vivos que beneficiam o animal promovendo o balanço da microbiota intestinal e agindo como promotor de crescimento se consumido na quantidade adequada. *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* são produtos aprovados pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (AESAs). Eles são compostos de esporos liofilizados adicionados à ração animal que contribuem para o crescimento, a eficiência da alimentação, e modulação da flora gastrointestinal. Estas espécies são suscetíveis aos antibióticos e não têm potencial

toxigênico. Estes probióticos são comercialmente usados para o gado, aves, coelhos e suínos (Silley, 2006) e, recentemente, em peixes (Albuquerque et al., 2013; Mohapatra et al., 2013; Nakandakare et al., 2013; Wild et al., 2014).

Seu mecanismo de ação prima por melhorar a nutrição através da absorção de nutrientes essenciais, melhorar a digestão e produzir substâncias que inibem o crescimento de patógenos oportunistas. Silva (2000) admite que o mecanismo de ação das bactérias probióticas é competição por sítios de ligação, competição por nutrientes, estímulo do sistema imunológico e produção de substâncias antibacterianas.

Baseado neste mecanismo de ação e suas vantagens, o objetivo geral deste estudo foi verificar a eficácia do probióticos, em diferentes concentrações, na sobrevivência de juvenis de carpa capim e analisar o efeito dos tratamentos sobre os parâmetros zootécnicos e hematológicos.

### **Material e métodos**

O experimento foi conduzido no laboratório de Aquariorfilia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), em Uruguaiana/RS/Brasil. Foram utilizados 144 juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) com peso inicial médio de  $3,98 \pm 0,7g$ , sem sinais de doenças parasitárias, provenientes de uma piscicultura do município de Ajuricaba, RS. Foi utilizado o probiótico PAS-TR®, que é composto por bactérias do gênero *Bacillus* (*Bacillus cereus*  $4,0 \times 10^{11}$  UFC e *Bacillus subtilis*  $4,0 \times 10^{11}$  UFC), vivas na forma liofilizada.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos (T1 – Controle, T2 - 5g probiótico/Kg de ração, T3 – 10g probiótico/Kg de ração e T4 – 15g probiótico/Kg de ração) com três repetições, totalizando 12 caixas d'água de 150 l, com 12 animais, em um sistema de recirculação fechado termorregulado, com uma vazão de 4 L/min., no laboratório de Aquariorfilia.

Foi introduzida uma farinha de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) na ração, para atender as exigências da espécie (herbívora) que consome grande variedade de plantas terrestres e aquáticas, em grande quantidade (até 60% do peso vivo por dia). O capim elefante foi previamente colhido *in natura* e levado à estufa com circulação forçada de ar por 72 horas (60°C) para secagem (Santos et al., 2001). O capim e os ingredientes foram moídos em um moinho de facas, em peneira de 0,50 mm. A dieta experimental (Tabela I) foi preparada através da mistura dos ingredientes secos com água e posterior peletização em máquina de moer carne. Após, a ração foi levada à estufa com circulação forçada de ar por 24 horas (55°C), sendo mantidas em refrigeração (-4°C) até o momento de fornecimento aos animais.

Tabela I. Formulação das dietas com diferentes níveis de inclusão de probiótico para carpa capim.  
Table I. Formulation of diets with different probiotic inclusion levels for grass carp.

Ingrediente* (%)	Probiótico			
	T1	T2	T3	T4
Farelo de soja	30,60	30,45	30,35	30,20
Farinha de carne	25,22	25,48	25,68	25,94
Farelo de trigo	6,00	5,85	5,76	5,65
Milho	16,06	15,55	14,80	14,10
Capim elefante**	12,00	12,00	12,15	12,23
Probiótico	0	0,5	1	1,5
Óleo de soja	5,62	5,67	5,76	5,88
Premix	3,00	3,00	3,00	3,00
Fosfato bicálcico	0,75	0,75	0,75	0,75
Sal	0,75	0,75	0,75	0,75
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Composição Química</b>				
<b>PB (%)</b>	30,73	30,73	30,74	30,74
<b>ED (kcal/ED kg-1)</b>	2983,40	2974,98	2966,28	2960,79
<b>EE (%)</b>	9,99	10,05	10,13	10,24
<b>FDN (%)</b>	15,56	15,42	15,36	15,26
<b>ENN (%)</b>	24,62	24,12	23,51	22,90
<b>MM (%)</b>	10,74	10,79	10,84	10,90

\*Valores de composição de ingredientes tabelados, conforme Rostagno et al. (2005). \*\* Valores analisados no Laboratório de Nutrição e Forrageira (UNIPAMPA). T1 – Controle, T2 - 5 g/Kg de ração, T3 - 10 g/Kg de ração e T4 - 15 g/Kg de ração. (PB) Proteína bruta, (ED) Energia digestível, (EE) Extrato etéreo, (FDN) Fibra em detergente neutro, (ENN) Extrativo não nitrogenado e (MM) Matéria mineral.

A alimentação foi fornecida diariamente, duas vezes ao dia (9 e 16h) 3% da biomassa. Os animais foram aclimatados durante 14 dias com a ração controle, o experimento teve duração de 56 dias, o fotoperíodo foi controlado com o auxílio de um temporizador (09:00 hs às 18:00 hs), o sistema foi sifonado duas vezes por semana e as biometrias (comprimento total, comprimento padrão e peso) foram realizadas a cada 14 dias, utilizando-se óleo de cravo 100 mg/L como anestésico. Foram realizadas semanalmente, análises dos parâmetros físico-químicos da água, sendo determinados valores de pH, turbidez, condutividade, oxigênio dissolvido, amônia e nitrito, com o auxílio de um pHmetro de bancada, turbidímetro, condutivímetro, oxímetro e kits de análise de água para amônia e nitrito, respectivamente. Já a temperatura, foi observada diariamente com termômetro de mercúrio.

Além das médias finais de peso e comprimento total, estes dados foram utilizados para calcular o desempenho de produção foi avaliado, ao final do experimento, a taxa de sobrevivência (S), o fator de condição (FC), ganho de peso médio diário (GMD) e a taxa de crescimento específico (TCE) através das fórmulas:  $S = (\text{total de peixes final} / \text{total de peixes inicial}) \times 100$ ;  $FC = ((\text{peso} / \text{comprimento total})^3 \times 100)$ ;  $GP = ((\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{n}^\circ \text{ dias})$  e  $TCE = (100 \times ((\text{In peso final} - \text{In peso inicial}) / \text{dias}))$ , (Bittencourt et al., 2013).



Para as análises hematológicas, foram retiradas amostras de sangue de 6 animais de cada caixa, (3 para as análises de hematócrito e mais 3 para as análises de hemoglobina). De cada peixe foi colhida uma alíquota de sangue por punção do vaso caudal, com auxílio de seringas de 1 ml heparinizadas. O sangue foi destinado às determinações da taxa de hematócrito, medida pela técnica do microhematócrito, preenchendo  $\frac{3}{4}$  do volume do tubo capilar, vedando uma das extremidades com massa de modelar. Em seguida, foi colocado o tubo na microcentrífuga (colocando a parte vedada para fora), centrifugado a 10.000 rotações por minuto (rpm) por 5 minutos e a leitura feita em uma régua para leitura de microhematócrito (%). E a hemoglobina calculada através do método de cianometahemoglobina, com 2,5 mL de reagente de cor e 10  $\mu$ L de sangue, água destilada e leitura em espectrofotômetro frente a um branco, a 540 nanômetros (nm) e calculada através de: Fator de Calibração = (Concentração do Padrão / Absorbância do Padrão) e Hemoglobina = (Absorbância da Amostra X Fator de Calibração (g/dL)) (Noro & Wiitwer, 2012).

Com a finalidade de verificar diferenças das médias de desempenho entre os grupos tratados com probiótico e o grupo controle, foram realizadas as análises estatísticas através do teste ANOVA seguido de Tukey nos parâmetros hematológicos e zootécnicos. Para as variáveis foi usado nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

### **Resultados e discussão**

Foram realizadas análises de temperatura  $26,7 \pm 2,2^\circ\text{C}$ ; pH  $8,6 \pm 0,5$ ; oxigênio dissolvido  $6,5 \pm 0,6$  mg/l; amônia tóxica total  $0,025 \pm 0,02$  ppm; nitrito  $\text{NO}_2$  0,00 ppm; condutividade  $919,62 \pm 210$   $\mu\text{S}/\text{CM}^2 25^\circ\text{C}$ ; turbidez  $0,60 \pm 0,10$  NTU os seguintes valores foram obtidos semanalmente, com exceção da temperatura (diariamente) e esteve dentro das condições adequadas para o crescimento da espécie (Poli & Arana, 2004).

As análises estatísticas não apresentaram diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos nos parâmetros zootécnicos avaliados (Tabela II). Alguns pesquisadores empregando imunostimulantes na ração para peixes também não encontraram diferenças significativas para análises dos parâmetros zootécnicos. Dentre eles, Ebrahimi et al. (2011), que utilizaram quatro dosagens de Immunogen preparado a base de mananoglicosacarídeo e  $\beta$ -glucan (imunostimulante), que variaram de 0,5 a 2,5 g/Kg, durante 56 dias e não observaram diferença de GP em juvenis de carpa comum (*Cyprinus carpio*). Igualmente Pakravan et al. (2011) aplicando durante 56 dias *Epilobium hirsutum* como imunostimulante para carpa comum, não obtiveram diferenças estatísticas significantes sobre a TCE (taxa de crescimento específico), FC (fator de condição) e conversão alimentar.

Do mesmo modo Aly et al. (2008) trabalhando com juvenis de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) não observaram diferenças no ganho em peso entre os peixes alimentados com e sem o probiótico *Bacillus pumilus*. No entanto, estes autores detectaram aumento no nível de proteção relativa dos peixes alimentados com o probiótico, medida pela infecção dos peixes com a bactéria patógena *Aeromonas*

*hydrophyla*, correlacionando a taxa de mortalidade dos peixes alimentados e não alimentados com probiótico. Portanto, alguns probióticos, em determinadas condições, não tem efeito sobre o crescimento dos peixes, tanto em peso como comprimento total, e somente, frente a algum estímulo estressor podem demonstrar seus efeitos benéficos sobre a capacidade de resposta, principalmente, imunológica.

A análise do FC não apresentou diferenças relevantes, demonstrando um crescimento adequado dos animais embora tenha sido um crescimento reduzido em todos os tratamentos para essa fase. Esta análise avalia a condição dos peixes em relação ao ambiente. Concordando com os resultados de Tachibana et al. (2011), que não constataram diferenças significativas para o FC em juvenis de tilápia do Nilo, com o probiótico *Bacillus subtilis* incrementado na ração e apresentaram valores bem semelhantes ao deste estudo. O baixo desempenho dos animais neste experimento, portanto, provavelmente, não se deve à falta de condições nutricionais, pois os peixes alimentavam-se bem, com sobras inclusive. Com isto, pode-se pensar que as condições de criação no local de procedência talvez não fossem as mais adequadas (deficiência nutricional) e podem ter afetado a taxa de crescimento.

Durante o experimento, a taxa de sobrevivência (S) de juvenis de carpa capim não foi afetada pela utilização do probiótico. No entanto, Lara-Flores et al. (2003) observaram que peixes em altas densidades de estocagem (fator estressante), alimentados com probióticos, apresentaram maior sobrevivência em relação ao grupo controle. A melhora nas condições de saúde do peixe alimentado com probióticos se deve principalmente à diminuição de bactérias nocivas por exclusão competitiva e consequentemente, redução da descamação do epitélio da mucosa intestinal (Ozawa et al., 1978).

Tabela II – Médias finais e erro padrão dos parâmetros zootécnicos de juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) em cada tratamento.  
Table II – Means and standard error of growth data of juveniles grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in Watch treatment.

Variável	Peso (g)	CT (cm)	GP (g)	TCE (%)	FC	S (%)
T1	5,72±0,2	8,33±0,1	1,73±0,2	0,59±0,1	0,99±0,02	100
T2	5,53±0,2	8,30±0,1	1,54±0,2	0,55±0,1	0,97±0,01	100
T3	5,24±0,2	8,07±0,1	1,25±0,2	0,45±0,1	0,98±0,01	100
T4	5,85±0,3	8,46±0,1	1,86±0,3	0,63±0,1	0,97±0,01	92
P	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS = não significativo a 5% (P>0,05)

Peso final; CT: comprimento total final; GP: ganho de peso final; TCE: taxa de crescimento específico; FC: fator de condição; S: sobrevivência.  
T1 – Controle, T2 - 5 g/Kg de ração, T3 - 10 g/Kg de ração e T4 - 15 g/Kg de ração.

Em relação aos parâmetros hematológicos, não houve diferença significativa entre os tratamentos, para a análise de hemoglobina. Para as análises de hematócrito, os animais do T3 apresentaram a maior média, diferindo estatisticamente do T1 e T2 (Tabela III). Os parâmetros hematológicos (hematócrito e hemoglobina) dizem respeito ao estado geral da saúde dos peixes e por não apresentarem alterações significativas em relação ao tratamento controle, indicaram que os mesmos encontraram-se saudáveis, corroborando aos estudos realizados por Ishikawa et al., (2007) e Harikrishnan et al. (2010).

É sabido que as células sanguíneas apresentam grande variação nos valores de contagem dependendo de fatores como, qualidade da água, estado nutricional e sistema de criação (Tavares-Dias; Moraes, 2004). Os resultados dos parâmetros hematológicos de todos os tratamentos, corroboram com os intervalos referenciais hematológicos para carpas que ficam entre (21 – 43%) para o hematócrito e (39 – 101g/L) para hemoglobina descritos por Noro & Wittwer (2012).

O trabalho de Sado et al. (2008), utilizando mananoligossacarídeo de levedo de cerveja (*Saccharomyces cerevesiae*) como imunoestimulante-probiótico adicionado a ração de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), não obtiveram diferença nos valores de leucócitos entre o grupo controle e o grupo que recebeu aditivos. Assim como Hisano et al. (2007) avaliando o efeito da suplementação de levedura de cana-de-açúcar *spray dried* (desidratada) e do mineral zinco (óxido de zinco), como pró-nutrientes em rações para tilápia do Nilo, sobre eritrócitos e hematócrito, e não encontraram disparidades entre os tratamentos.

A principal função dos eritrócitos (células vermelhas) é transportar oxigênio e, em grau menor, o dióxido de carbono. O transporte das moléculas de oxigênio é realizado pelas moléculas de hemoglobina (Noro & Wittwer, 2012). O resultado encontrado no hematócrito do T3 poderia ser explicado pelo estresse de manejo no final do experimento que poderia ocasionar um aumento significativo do hematócrito nos animais do T3, porém, sem o aumento considerável da hemoglobina em relação aos outros tratamentos. Isto significa que os peixes produziram células vermelhas maiores (imaturas provavelmente) e com menor concentração dos valores de hemoglobina no interior das células, em conformidade com o trabalho de Nakandakare et al. (2013) que incluiu os probiótico *Bacillus subtilis* e *Bacillus cereus* na ração de juvenis de tilápia do Nilo e encontraram resultado semelhante.

Noro & Wittwer (2012) também descrevem que estes resultados sugerem que os peixes se adaptam ao estresse hipóxico reduzindo o consumo de oxigênio e incrementando o número de eritrócitos em circulação. Todavia muitas destas células são fisiologicamente pouco funcionais devido a escassa hemoglobina que possuem.

Tabela III – Médias e erro padrão dos parâmetros hematológicos de juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) em cada tratamento.  
 Table III - Means and standard error of haematological parameters of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in each treatment.

<b>Tratamento</b>	<b>Hematócrito (%)</b>	<b>Hemoglobina (g/L)</b>
<b>T1</b>	24,00±1,00 b	49,30±6,46
<b>T2</b>	23,30±0,50 b	53,35±8,33
<b>T3</b>	25,75±1,83 a	53,40±3,46
<b>T4</b>	24,71±0,95 ab	57,90±10,12
<b>P*</b>	0,0014	0,1510

\*Letras diferentes nas colunas, diferem estatisticamente (P<0,05) 5% de significância.

T1 – Controle, T2 - 5 g/Kg de ração, T3 - 10 g/Kg de ração e T4 - 15 g/Kg de ração.

Embora se tenha utilizado um sistema de recirculação fechado, o que poderia gerar a dúvida da contaminação do probiótico na água ou nas caixas do tratamento controle, possivelmente isso é pouco provável. Com a preocupação em evitar a presença do probiótico no tratamento controle, Tachibana et al. (2011) realizaram análises microbiológicas nos peixes do tratamento controle, e não se detectou o crescimento de *Bacillus subtilis* nas placas, demonstrando que não houve contaminação dos aquários e da ração do tratamento controle e, que a bactéria não estava presente no sistema. Ainda assim, deve se destacar que isso não foi verificado nesse trabalho.

A maioria dos trabalhos não demonstram efeitos nos parâmetros zootécnicos, a falta de diferença significativa entre os dados é de que provavelmente os efeitos benéficos teriam sido vistos frente a um estímulo estressor, possibilitando, quem sabe, indicar o melhor nível de inclusão. Por conta de que é recomendado fornecer o probiótico antes de situações de alto estresse ou períodos de incidência de doenças, sendo assim, uma ação preventiva.

### **Conclusão**

Os tratamentos com inclusão de probióticos em diferentes dosagens não diferem estatisticamente do tratamento controle, quando analisados a sobrevivência, os parâmetros zootécnicos e hematológicos em juvenis de carpa capim.

### **Bibliografia**

Albuquerque, D.M.; N.G. Marengoni; W.R. Boscolo; R.P. Ribeiro; I. Mahl & M.C. Moura. 2013. Probióticos em dietas para tilápia do Nilo durante a reversão sexual. Cienc. Rural, 43(8): 1503-1508.

Aly, S.M.; Ahmed Y.A.G.; Ghareeb, A.A.A. & Mohamed, M.M. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potencial probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia

nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish and Shellfish Immunology*, 25(1-2):128-36.

Balcázar, J.L. 2002. Uso de probióticos em acuicultura: aspectos generales. In: I Congresso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. Anais...CIVA 2002 (<http://www.civa2002.org>), p. 877-881.

Bittencourt, F.; D. H. Neu; R. Pozzer; T. A. Lui; A. Feiden; W. R. Boscolo. 2013. Frequência de arraçoamento para alevinos de carpa comum. *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 39(2): 149 – 156.

Bogut, I.; Milakovic, Z.; Bukvic, Z.; Brkic, S. E.; Zimmer, R. 1998. Influence of probiotic (*Streptococcus faecium* M74) on growth and content of intestinal microflora in carp (*Cyprinus carpio*). *Czech J. Anim. Sci.*, 43:231-235.

Camargo, J.B.; Radünz Neto, J.; Emanuelli, T.; Lazzari, R.; Costa, M.L.; Losekann, M.E.; Lima, R.L.; Scherer, R.; Augusti, P.R.; Pedron, F.A. e Medeiros, T.S. 2006. Cultivo de alevinos de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) alimentados com ração e forragens cultivadas. *Rev. Bras. Agro.*, 12: 211-215.

Castro, C.A.S.; Cervon, M.F. 2004. Efecto del probiótico *Saccharomyces cerevisiae* em tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) al ser proposto como promotor de crescimento. *Redvet*, 4 (2):0-13.

Chilton, N.W.; Muoneke, M.I. 1992. Biology and management of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) for vegetation control: A North American perspective. *Reviews in fish biology and fisheries*, v. 2, p. 283-320.

Ebrahimi, G; Ourajl, H.; Khalesi, M. K.; Sudagar, M.; Barari, A.; Dangesaraki, M. Z.; Janikhalili, K. H. 2011. Effects of a prebiotic, Immunogen®, on feed utilization, body composition, immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2011.

Flores, M.L.; Briones, L.E.; Novoa, M.A.O. 2002. Avances en utilizacion de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) En: CruzSuárez, L.E., et al. (eds.). *Avances en Nutricion Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutricion Acuícola. 2002. Anais...Cancún, Quintana Roo, México.*

Fox, S. 1988. Probiotics: Intestinal inoculants for produccion animals. *Vet. Méd.* 806- 823.

- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. A review. *J. Appl. Bacteriology*, 66:365-378.
- Gaggia, F.; Mattarelli, P. and Biavati, B. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int J Food Microbiol*, 141: 15-28.
- Graeff, A.; Spengler, M.M.; Pruner, E.N. 2002. Desempenho produtivo de Carpas comum (*Cyprinus carpio* var. *specularis*) com dietas contendo promotores de crescimento. In: I Congresso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. Anais...CIVA 2002 (<http://www.civa2002.org>), p. 45-51.
- Harikrishnan. R.; Balasundaram, C.; Heo, M.S. 2010 Supplementation diet containing probiotics, herbal and azadirachtin on hematological and biochemical changes in *Cirrhina mrigala* against *Aphanomyces invadans*. *Fisheries and Aquaculture Journal*, Volume 2010: FAJ-4: 1-11.
- Hisano, H.; Barros, M. M.; Pezzato, L. E. 2007. Levedura e zinco como pró-nutrientes em rações para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*): Aspectos hematológicos. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 33, n. 1, p. 35-42.
- Ishikawa, N.M.; Ranzani-Paiva, M.J.T.; Lombardi, J.V.; Ferreira, C.M. 2007. Hematological parameters in Nile Tilápia, *Oreochromis niloticus*, exposed to sub-lethal concentrations of mercury. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50: 619-626.
- Lara-Flores, M.; Olevera-Novoa, M.A.; Guzmán-Méndez, B.E. & López-Madrid, W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216(14):193-201
- Mohapatra, S.; T. Chakraborty; V. Kumar; G. DeBoeck & K.N. Mohanta. 2013. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 97(3): 405-430.
- Mukhopadhyay, P.K.; Kaushik, S.J. 2001. Nutritional requirements of the Indian major carps. *International Aqua Feed*, v.1, p.28-32.
- Mulder, R.W.A.W. 1991. Probiotics as a tool against Salmonella contamination. *Misset World Poultry*, 7:36-37.

Nakandakare, I.B.; M.K.P. Iwashita; D.C. Dias; L. Tachibana; M.J.T. Ranzani-Paiva & E. Romagosa. 2013. Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilapias do Nilo: parâmetros hemato-lógicos, imunológicos e microbiológicos. Bol. Inst. Pesca, 39(2): 121-135.

Noro, M. e F. Wittwer. 2012. Hematologia de Salmonídeos. Valdivia: América. Valdivia, Chile. pp 43.

Ozawa, K.; Yabu-Uchi, K. & Yamanak, K. 1978. Antagonistic effects of *Bacillus natto* and *Streptococcus faecalis* on growth of *Candida albicans*. Microbiology Immunology, 23(12):1147-56.

Pakravan, S.; Hajimoradloo, A.; Ghorbani, R. 2011. Effect of dietary willow herb, *Epilobium hirsutum* extract on growth performance, body composition, haematological parameters an *Aeromonas hydrophila* challenge on common carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture Research, p. 1-9.

Poli, C.R. e L.V. Arana. 2004. Qualidade da água em aquicultura. In: Poli, C.R. A.T.B. Poli E.R. Andratta e Beltrame, E. (Orgs.). Editora Multitarefa. Aquicultura: experiências brasileiras. Florianópolis. SC. pp. 45-72.

Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Donzele, J.L.; Gomes, P.C.; Oliveira, R.F.M.; Lopes, D.C.; Ferreira, A.S. e Barreto, S.L.T. 2005. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2.ed. Universidade Federal de Viçosa, 2. Viçosa, MG. Brasil. 186 pp.

Sado, R. Y.; Bicudo, A. J. A.; Cyrino, J. E. P. 2008. 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, v. 39, n 6.

Santos, E.A. dos; Divan, S. da S.; José, L. de Q.F. 2001. Composição Química do Capim-Elefante cv. Roxo Cortado em Diferentes Alturas. Rev. bras. zootec. 30(1):18-23.

Silley, P. 2006. Do bacteria need to be regulated? J. Appl. Microbiol., 101: 607-615.

Silva, E.N da. 2000. Antibióticos intestinais naturais: bacteriocinas. In: Simpósio sobre aditivos alternativos na nutrição animal. Anais...Campinas, SP, CBNA, 2000 p.16-26.

Soares, C. M.; Hayashi, C.; Furuya, V. R. B.; Furuya, W. M.; Galdioli, E. M. 1998. Farelo de canola na alimentação de alevinos de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella* V.). Acta Scientiarum. Animal Sciences, v. 20, n. 3, p. 395-400.

Tachibana, L. et al. 2011. Probiótico na alimentação da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), durante a inversão sexual: desempenho zootécnico e recuperação da bactéria probiótica intestinal. *Bioikos*, Campinas, 25(1):25-31.

Wild, M.B.; N.G. Marengoni; M.M.P.S. Vivian; C.Y. Tsutsumi & M.C. Moura. 2014. Probiótico dietético em sistemas de produção de tilápia do Nilo: efeitos sobre o crescimento, balanço de N e P, retenção de nutrientes e viabilidade econômica. *Semina. Cienc. Agrar.*, 35(1): 477-490.



### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Verificou-se com este experimento que os juvenis de carpa capim estavam sob condições ideais de crescimento e os aditivos incluídos na ração, nas concentrações de 5 a 15 g/ kg de ração, não demonstraram efeito significativo na sobrevivência, parâmetros zootécnicos e hematológicos avaliados.

Vários trabalhos já demonstraram os efeitos benéficos dos probióticos melhorando sua resistência frente a infecções atuando como imunoestimuladores em diferentes espécies de peixes como *Oreochromis niloticus*, *Labeo rohita* e *Dicentrarchus labrax*. É possível a detecção de *Bacillus* viáveis em intestinos de *Oreochromis niloticus* alimentadas com dietas contendo estas bactérias como produto probiótico, as contagens de *Bacillus subtilis* no intestino foram crescentes em relação aos níveis de inclusão de probiótico na ração.

Seria interessante observar o desempenho dos probióticos frente a patógenos injetados nos animais, comparando com o tratamento controle e verificar a presença de bactérias probióticas no intestino, através de análises histológicas.

#### 4. REFERÊNCIAS

BALDISSEROTO, B.; RADÜNZ NETO, J. Criação de jundiá. Santa Maria: **Editora UFSM**, 232p. 2004.

CABELLO, F.C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. **Environmental Microbiology**. 2006.

CASTAGNOLLI N. Piscicultura de água doce. **Jaboticabal: Funep**, 1992.

HAJRA A. Biochemical investigations on the protein-calorie availability in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) from an aquatic weed (*Ceratophyllum demersum* Linn.) in the tropics. **Aquaculture**. 1987.

JATOBÁ, A. et. al. Diet supplemented with probiotic for Nile tilapia in polyculture system with marine shrimp. **Fish Physiology and Biochemistry**. 2011.

JAY, J. M. **Microbiologia Moderna de los Alimentos**. 4.<sup>a</sup> edición. Zaragoza: Acribia, Pg. 118, 2002.

JIRAPHOCAKUL, S.; SULLIVAN, T.W. & SHAHANI, K.M. Influence of a dried *Bacillus subtilis* culture and antibiotics on performance and intestinal microflora in turkeys. **Poultry Science** **69**: 1966-1973. 1990.

MOURIÑO, J.L.P. et. al. Effect of dietary supplementation of inulin and *W. cibaria* on haemato-immunological parameters of hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp). **Aquaculture Nutrition**. 2012.

MULDER, R.W.A.W. et. al. Probiotics as a tool against Salmonella contamination. **Misset World Poultry** **7**. 1991.

NORO, M. e WITTEWER, F. Hematologia de Salmonídeos. **Valdivia: América**. Valdivia, Chile. pp 43. 2012

PARKER, R. B. Probiotics, the other half of antibiotic story. **Animal Nutrition and Health**. v. 29, p. 4-8, 1974.

POLLMANN, D.S. et. al. Probiotics in pig diet. **Central Soya Feed Research**. Decatur, Indiana: 193-205. 1985.

SCHMIDT A.S. et. al. Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. **Appl. Environmental Microbiology**. 2000.

SHIREMAN JV, COLLE DE, ROTTMANN RW. Intensive culture of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, in circular tanks. **Journal of Fish Biology**. 1977.

SILVA, C. A. Da. et. al. Uso de probiótico e de antibióticos na alimentação de leitões em fase de creche. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 4, p. 739-746, out./dez. 2007.

SILVEIRA, R.; RIGORES, C. Características hematológicas normales de *Oreochromis aureus* em cultivo. **Revista Latina Acuicultura**, v. 39, p. 54-56, 1989.

TRIPATHI, S.D.; DATTA, A.K. Effects of species proportion and stoking density on growth and production in carp polyculture. **Aquaculture hungarica**, Budapest n. 6, p. 203-209, 1990.

VENKATESH B, SHETTY HPC. Studies on the growth rate of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed on two aquatic weeds a terrestrial grass. **Aquaculture**. 1978.

## 5. ANEXOS



### **Envio de trabalhos**

Os trabalhos serão enviados em qualquer dos idiomas admitidos (espanhol, inglês, francês, português e italiano). Pode-se empregar qualquer um dos idiomas oficiais, porém se não é utilizado o idioma inglês, deverão ser traduzidos para este idioma; o título do trabalho, as palavras chave adicionais e o resumo, assim como, o título das figuras e tabelas. Se o trabalho encontra-se em inglês as traduções podem ser realizadas em qualquer dos outros idiomas oficiais acima mencionados.

Os trabalhos deverão ser enviados preferencialmente por via eletrônica, habilitada para este propósito na página web da revista [Archivos de Zootecnia](#) embora também possam ser enviados por e-mail ou em CD, por correio convencional para: Prof. Dr. A.G. Gómez Castro. Archivos de Zootecnia. Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales 14014 Córdoba, Espana.

Os autores enviarão uma carta de conformidade com a publicação assinada por todos, na qual se comprometem com a [Archivos de Zootecnia](#) de que os resultados expostos não foram publicados em outro lugar, nem tampouco estão sendo submetidos a outra revista simultaneamente.

### **Formato e estrutura dos trabalhos**

No formato da revista, os artigos terão uma extensão máxima de 12 páginas; as notas breves de quatro páginas e embora não existam limites pre-estabelecidos para os trabalhos de revisão que serão publicados somente na versão on-line de [Archivos de Zootecnia](#) é aconselhável uma extensão similar a dos artigos. Para as revisões que superem esta restrição, o editor poderá limitar sua extensão se julgar oportuno.

Em termos quantitativos, no caso dos artigos, 12 páginas equivalem aproximadamente a uns 39.000 caracteres (incluindo brancos), dos quais deverão ser descontados 50 caracteres para cada linha de tabela ou figura em uma coluna e 100 para cada linha de tabela ou figura em coluna dupla. No caso de notas breves procede-se da mesma maneira, porém a extensão é de uns 11.000 caracteres.

O texto do trabalho será apresentado em formato Word, tamanho A4, margem esquerda: 2 cm, superior, direito e inferior: 1,5 cm, letra Times New Roman 11, interlineado exato, 14 pontos.

O estilo e indicação de capítulos no texto será com as mínimas instruções de formato, apenas as necessárias para entender a hierarquia entre epígrafes e adequação de palavras (p.e itálicas para nomes latinos...etc). NÃO usar o formato TODAS MAIÚSCULAS.

Todas as informações do trabalho deverão ser incluídas em um só arquivo, o qual apresentará o texto do trabalho e ao final do mesmo as tabelas e as figuras com seus títulos separados cada uma por um salto de página. O peso dos arquivos não deverá ser superior a 2 megabites.

Os gráficos deverão ser apresentados em arquivos do tipo Excel e as fotografias e/ou desenhos com qualidade suficiente (mínimo de 300DPI) em formato WMF, BMP, JPG ou TIF.

Os artigos serão estruturados da seguinte forma:

- **Título.** Deverá ser breve e informativo, refletindo o conteúdo do trabalho. Sua extensão máxima será de duas linhas em formato da revista (uns 100 caracteres aproximadamente, brancos incluídos). Deverá incluir também um título abreviado de até 70 caracteres, brancos incluídos.

- **Autores.** O nome dos autores virá em minúscula: o primeiro autor: Sobrenome, Inicial e os seguintes autores: Inicial Sobrenome, separados por vírgulas.

Todas as informações pertinentes de forma completa deverão ser incluídas no endereço institucional, inclusive, correio eletrônico. O autor deverá especificar obrigatoriamente um correio eletrônico para correspondência.

Valerio, D.<sup>1</sup> y A. García<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Programa de Pastos y Forrajes. Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF). República Dominicana. E-mail: dvalerio@idiaf.org.do

<sup>2</sup>Departamento de Producción Animal. Universidad de Córdoba (UCO). Campus de Rabanales. 14014 Córdoba. España. Autor para correspondencia. E-mail: palgamaa@uco.es

- **Palavras chave.** As palavras chave são adicionais (não devem estar incluídas no título do trabalho) e deverão ser indicadoras de outros aspectos de interesse tratados no trabalho. Não devem ser selecionadas palavras sem conteúdo específico ou pouco informativo. Estas palavras possuem grande importância já que fazem parte dos diferentes mecanismos de busca de dados.

- **Resumo.** Deverá descrever o propósito do estudo, citar a metodologia empregada de forma sucinta, ressaltar os resultados principais e indicar as conclusões. Deverá ser sucinto, informativo, claro e inteligível suficientemente para compreender o trabalho sem necessidade do texto, induzindo a sua leitura pelos cientistas interessados.

- **Introdução.** Deverá ser breve. Enfocherà os antecedentes e a situação atual do objeto de estudo, justificando o interesse do mesmo em Produção Animal, além de explicitar claramente ao final os objetivos do trabalho.

- **Material e Métodos.** A experiência deverá ser detalhada suficientemente para permitir que qualquer outro pesquisador possa replicá-lo. Aqueles aspectos singulares da experiência deverão ser detalhados, entretanto, deverão ser evitados excessivos detalhes metodológicos, procedimentos, etc. que estejam apontados em trabalhos prévios suficientemente difundidos. Não obstante, em qualquer caso há

necessidade de fazer referencia ao tamanho da amostra, idade, sexo, raça ou variedade, procedência dos animais, características dos alimentos, situações experimentais, etc.

Finalmente, faz-se necessário mencionar as medidas e controles realizados, assim como as condições meio-ambientais nas quais se desenvolveram as experiências. No caso de animais em cativeiro há necessidade de detalhar o manejo (frequência da limpeza das baias, tamanho e composição do grupo, etc.) e as instalações utilizadas (tamanho, temperatura, etc.). Deve-se incluir a descrição dos procedimentos estatísticos utilizados.

- **Resultados.** Incluir somente os resultados relevantes e relacionados com a hipótese testada e apontada na introdução, a qual será considerada na discussão. O texto deverá ser apoiado e complementado através de tabelas ou figuras sem repetição da informação.

- **Discussão.** O propósito principal da discussão (que pode fundir-se ao capítulo de Resultados, conforme preferência do autor) é comentar a significação dos resultados e comparara os resultados com trabalhos previamente realizados e citados neste capítulo. A discussão deve ser sucinta e não especulativa devendo conduzir as conclusões do trabalho.

- **Bibliografia.** A citação dos artigos relacionados com o tema do trabalho publicados anteriormente em [Archivos de Zootecnia](#), não é obrigatória, porém ao fazê-lo ajudará a melhorar o índice de impacto da revista e conseqüentemente sua valorização. O corpo editorial da revista poderá sugerir a inclusão de alguma referencia significativa se julgar oportuno.

Boa parte dos números de [Archivos de Zootecnia](#) encontram-se disponíveis para download em formato de texto completo gratuito em na versão eletrônica. A citação correta de artigos na Revista [Archivos de Zootecnia](#) é a seguinte: Autores. Ano. Título. Arch. Zootec., Vol: pp-pp. A citação correta dos trabalhos de revisão que somente aparecerão na versão eletrônica de [Archivos de Zootecnia](#) é a seguinte: Arch. Zootec., Vol (atualmente 55) (R): pp-pp seguido da data de consulta.

Para as referencias inseridas no texto, deve-se mencionar o sobrenome de um dos autores, porém somente o sobrenome do primeiro autor, seguido por et al. quando forem três ou mais. As citações de referencia no texto podem ser: “Segundo indicam García et al. (2006)...” ou também: através do método de Bliss (Sokal & Rolhf, 1981; Davies et al., 2003).

Todas as referencias que aparecerem no texto deverão ser comprovadas no capítulo referente à Bibliografia e vice-versa, as quais deverão estar bem referenciadas (autores, ano, título, revista, volume, páginas, etc). Cuidados especiais devem ser direcionados para as referencias bibliográficas de idiomas estrangeiros.

A relação de referencias bibliografias citadas deverá ser organizada em ordem alfabética por autores (os repetidos, por ordem cronológica e se são do mesmo ano, incluir nesta uma letra: a, b, c, etc. para

diferenciação), indicando: autores (todos), ano, título, revista (serão abreviados de acordo com a lista do ISI).

Barrow, N.J. 1987. Return of nutrients by animals. In: R.W. Snaydon (Ed.) *Managed Grasslands*, B. Analytical Studies pp: 181-186. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

Nastis, A.S. and J.C. Malecheck. 1988. Estimating digestibility of oak borwse diets for goats by in vitro techniques. *J. Range Manage.*, 42: 225- 258.

Nos trabalhos aceitos ou no prelo incluir: autores (todos), título, revista e (no prelo) ou (aceito) segundo corresponda em lugar da data. Os trabalhos submetidos e ainda não aceitos não deverão constar da lista de referencias bibliográficas. Tanto no texto como na relação de referencias bibliográfica NÃO deverão ser escritas em formato TODAS MAIÚSCULAS.

Referencias eletrônicas. As consultas em páginas web serão citadas, seguindo a mesma tônica, autor, ano, título endereço web, seguidos da data da consulta.

#### **- Tabelas e figuras.**

As tabelas e figuras devem ser claras, simples e compreensível sem referencia ao texto.

- \* Utilizar números arábicos para numerar as figuras e romanos para as tabelas.
- \* Os títulos das tabelas e figuras devem ser curtos, porém suficiente para entender seu conteúdo sem necessidade do texto.
- \* Fornecer a informação adicional como nota de rodapé de tabela ou figura.
- \* As tabelas deverão ser suficientemente curtas para não sugerir divisão.
- \* As tabelas não devem conter linhas verticais nem horizontais
- \* As tabelas grandes devem ser estreitas e longas ao invés que largas e curtas com vistas ao formato da revista.
- \* As figuras devem ser bastante grandes para permitir sua reprodução com qualidade, elaboradas de acordo com as dimensões das colunas exigidas pela revista.
- \* Os símbolos identificadores preferidos nas figuras são círculo, quadrado e triangulo abertos ou cheios. A trama negra sólida não deve ser empregada.
- \* Os sinais e legendas devem ser incluídos dentro dos eixos da figura.
- \* A legenda deve situar-se de modo que permita o máximo aproveitamento da coluna.
- \* O editor poderá redesenhar e etiquetar ou solicitar aos autores, figuras e tabelas quando for necessário para adaptação ao estilo da revista.