

LUIZ THIAGO VERSIANI MIRANDA

**LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae*, EM DIETAS PARA LAMBARIS-DO-
RABO-AMARELO (*Astyanax altiparanae*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M672L
2012

Miranda, Luiz Thiago Versiani, 1984-
Levedura *Saccharomyces cerevisiae*, como probiótico, em dietas para lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) / Luiz Thiago Versiani Miranda. – Viçosa, MG, 2012.
49f. : il. ; 29cm.

Orientador: Ana Lúcia Salaro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Lambari (Peixe). 2. Probióticos. 3. *Astyanax altiparanae*. 4. Leveduras. 5. *Saccharomyces cerevisiae*. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 597.482

LUIZ THIAGO VERSIANI MIRANDA

**LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae*, EM DIETAS PARA LAMBARIS-DO-
RABO-AMARELO (*Astyanax altiparanae*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de junho de 2012.

Prof. Jener Alexandre Sampaio Zuanon
(Coorientador)

Prof. Galileu Crovatto Veras

Prof^ª. Ana Lúcia Salaro
(Orientadora)

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, Djalma (in memorian) e Vanilda,

...sei que nada do que eu venha a fazer de agora pra frente, poderá compensar o esforço que fizeram para que eu conquistasse mais essa etapa de minha vida. Sei ainda, que minha ausência em todo esse tempo, não tem como ser compensada. Mas saibam que serei eternamente grato, não só por todo empenho em me oferecer as melhores oportunidades, mas por todo o amor, que mesmo a distancia, sempre me deram. Não somente a conquista deste título, mas todos os valores que tenho, são méritos de vocês. Obrigado, por todo carinho, apoio, compreensão, incentivo e ensinamentos, que com certeza, levarei por toda a vida. Espero poder retribuir ao máximo tudo que fizeram por mim.

E aos meus irmãos Túlio e Fá,

... meus amigos, que nunca mediram esforços para me ajudar, e sempre tiveram as palavras de apoio e conforto, quando mais precisei.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Ana Lúcia Salaro,

...que sempre me incentivou e me encorajou a lutar por esta conquista. Sempre soube, até mais que eu, do meu potencial e não me deixou desistir, quando tudo parecia dar errado. Com você, aprendi muito mais do que teorias, aprendi a procurar ser uma pessoa melhor, a lutar por meus objetivos e me empenhar em ajudar as pessoas sem esperar nada em troca. É exemplo de dedicação, trabalho, luta e conquista. Dizem que os amigos são a família que escolhemos, e você, com certeza, faz parte da minha. Obrigado pela oportunidade, pelo voto de confiança, pelas cobranças e pelo incentivo, e principalmente por todo cuidado e carinho. Me orgulho por ter feito parte dos seus “alevinos”!!! Saiba que pode sempre contar comigo!

E pra você Professora:

*“Um sonho que se sonha só, é só um sonho que se sonha só, mas
sonho que se sonha junto é realidade”*

Raul Seixas

*“... essa dor ainda vai fazer de nós, muito mais do que
sonhamos ser, seremos nossos próprios heróis, e nossos medos
vão nos fortalecer.”*

Luiz Thiago Versiani Miranda

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, meu guia e meu alicerce, que me auxiliou a tomar os melhores caminhos e a ser humilde para voltar atrás e pedir perdão quando tomava o rumo errado;

À Universidade Federal de Viçosa, pela estrutura e oportunidade para realização da minha Pós-Graduação em Biologia Animal, possibilitando a conquista do meu título de Mestre;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa;

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (Reuni) pela concessão da bolsa de estudo;

À Profa. Dra. Ana Lúcia Salaro pela orientação e dedicação dispensada a mim durante meu mestrado;

Aos Professores Dra. Flávia Maria Lopes Passos e Dr. Jener Alexandre Sampaio Zuanon pela coorientação, pelas inúmeras discussões que com certeza contribuíram muito para minha formação, pelo exemplo, conselhos e amizade;

Ao Prof. Dr. Edênio Detmann por disponibilizar o Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia, para realização das análises de composição química das amostras;

Aos técnicos do Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia, Faustino Pereira Monteiro, Mário Pires de Freitas e Vera Lúcia da Silva, pela preciosa ajuda na análise das amostras;

Ao Mestrando Marcelo Duarte Pontes e a graduanda Kátia Rodrigues Batista de Oliveira, pois sem a ajuda de vocês não teria chegado ao final dessa etapa;

Aos Professores membros da banca examinadora, Ana Lúcia Salaro, Galileu Crovatto Veras e Jener Sampaio Zuanon, pelas contribuições que muito enriqueceram este trabalho;

Aos professores, Jorge Abdala Dergam, Sérgio da Mata e Sérgio de Paula, por toda ajuda e colaboração.

Aos funcionários do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal da UFV, João Antônio de Oliveira e José Francisco por toda a ajuda prestada, que não foram poucas, além da amizade, aprendizado e inúmeras conversas;

Ao ex-funcionário do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal da UFV, Paulo Soares Bernardo, pela amizade e toda a ajuda prestada e principalmente pelo aprendizado;

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal Adnílson Brasileiro, pelos vários esclarecimentos e ajudas dadas durante minha formação;

Ao funcionário Geraldo Pereira Filho e ex-funcionário Helvécio de Freitas, do laboratório de Zoologia do Departamento de Biologia Animal, por toda ajuda prestada;

Aos funcionários da Secretaria do Departamento de Biologia Animal Nilo Souza e Lúcia Helena Campos, por mostrarem-se sempre dispostos a me ajudar;

Aos pós-graduandos em Biologia Animal, Marcelo Duarte Pontes, Diogo Magalhães da Veiga Moreira, Frederico Werneck Lima e Lidiane e a Doutoranda Pollyana de Moraes França Ferreira, pela grande amizade e companheirismo, e principalmente por toda ajuda prestada;

Aos pós-graduandos em Fisiologia dos Microrganismos, Caio e Robson, por toda atenção, paciência, amizade e por toda ajuda e ensinamentos;

Aos estudantes de Iniciação Científica e Estagiários do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal, Kátia Rodrigues Batista de Oliveira, José Carlos de Oliveira Junior, Renato Barbosa Ferraz e Willian Chaves pela dedicação e colaboração durante o desenvolvimento do meu experimento, além da grande amizade;

Aos engenheiros Agrônomos Márcio Yoshiyuki Kanashiro e Isabel Gertrudes Arrigui de Araújo Neves, integrantes do grupo da piscicultura, por toda ajuda, apoio e amizade.

Aos ex-mestrandos do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Daniel Abreu V. Campelo, Rodrigo Yutaka Dichoff Kasai, Galileu Crovatto Veras e Mateus Moraes Taveres pela amizade e trabalhos realizados durante os anos de convivência;

As Repúblicas Rancho Fundo, Prato Fundo e Grozop pelas várias amizades feitas durante todo meu período em Viçosa e que se prolongarão pela vida. Lelê, Thiagão, Dudú, Caillet, Luisão, Brenim, Liniker, Trigs, Petim e Felipão, Daniboy, Kana, Negão, Rogerio, Cayo Kyr, Augusto Caracu e Sônia;

Aos amigos que muito me ouviram e tanto me aconselharam, Daniboy, Marcelão, Kana, Caillet e Fabrícia, Thiago batata, Raquel Anício, Raquel Fonseca e Aline Alvares, por todo carinho, apoio e incentivo;

À turma dos “burros”, Elton, Zezé, Titi, Kara, Negão, Rodrigo, Renato e Daltin, e a todos os amigos de Montes Claros;

Aos amigos, músicos, com os quais compartilhei vários bons momentos, e me ajudaram a me tornar uma pessoa melhor, Caillet, Gerrard, Thiago batata, Luizinho Souza, Juninho, João Victor, Rafael drumis, Guilherme, Evandro e vários outros.

...e a todos que, de alguma maneira, colaboraram com minha formação ou com a execução deste trabalho.

MEU MUITO OBRIGADO !!!!

BIOGRAFIA

LUIZ THIAGO VERSIANI MIRANDA, filho de Djalma Versiani dos Santos e Vanilda Miranda Versiani, nasceu em 06/09/1984, na cidade de Montes Claros, Minas Gerais.

Graduou-se em Agronomia, em janeiro de 2010 pela Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Ingressou no programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, em nível de Mestrado, em março de 2010, pelo Departamento de Biologia Animal na Universidade Federal de Viçosa (UFV), defendendo a dissertação em 25 de junho de 2012.

SUMÁRIO

RESUMO	x
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO GERAL	1
ESTADO DA ARTE.....	3
Promotores de crescimento	3
Probióticos	4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> como probiotico	6
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> em dietas para peixes	7
<i>Astyanax altiparanae</i> (lambari-do-rabo-amarelo)	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
CAPÍTULO I	19
LEVEDURA <i>Saccharomyces cerevisiae</i> EM DIETAS PARA LAMBARIS-DO- RABO-AMARELO (<i>Astyanax altiparanae</i>)	19
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
Local e delineamento experimental	23
Dietas-teste	23
Análise de desempenho produtivo e rendimento corporal.....	24
Composição química da carcaça.....	24
Análises microbiológicas do tubo digestório.....	25
Análise estatística	25
RESULTADOS	26
Análise de desempenho produtivo e índices de rendimento corporal	26
Composição química da carcaça.....	26
Análises microbiológicas do trato gastrointestinal.....	26
DISCUSSÃO	27
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Análise química das rações.....	32
Tabela 02. Análise microbiológica das rações.....	32
Tabela 03. Desempenho produtivo e índices de rendimento corporal.....	32
Tabela 04. Composição química das carcaças.....	33
Tabela 05. Colonização de bactérias heterotróficas totais.....	33

RESUMO

MIRANDA, Luiz Thiago Versiani, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2012. **Levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)**. Orientadora: Ana Lúcia Salaro. Coorientadores: Flávia Maria Lopes Passos e Jener Alexandre Sampaio Zuanon

A substituição de substâncias quimioterápicas por probióticos em rações para organismos aquáticos vem apresentando resultados satisfatórios em função da melhoria no desempenho e sistema imunológico dos animais, assim como na não contaminação do meio aquático por resíduos desses quimioterápicos. Aos probióticos são atribuídas as funções de inibição ou exclusão competitiva de microrganismos e a ação positiva na resposta imune inespecífica. Entre os probióticos, a levedura do álcool, *Saccharomyces cerevisiae*, se destaca por apresentar resultados benéficos à saúde dos peixes, e características como biossegurança, facilidade de incorporação e resistência aos processos de confecção das dietas, além de ser co-produto da agroindústria do açúcar e álcool. Entre as diversas espécies de peixes, os lambaris, são consideravelmente sensível ao manejo, o que dificulta o estabelecimento de pacotes tecnológicos para sua produção em cativeiro. Portanto, com este estudo objetivou-se avaliar o efeito probiótico da levedura *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desempenho produtivo, composição química da carcaça, e colonização do trato gastrointestinal dos peixes. Para tal, realizou-se experimento em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (0,00; 0,50; 1,00; 1,50; 2,00 e 2,50% da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na ração) e cinco repetições, com 30 peixes por unidade experimental. Juvenis de lambaris-do-rabo-amarelo com peso médio de $1,89 \pm 0,10$ g foram distribuídos em 30 aquários circulares (65L de água), na densidade de 30 peixes por aquário, aeração constante e temperatura controlada ($26 \pm 1,0^\circ\text{C}$). Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia, por 90 dias, com as dietas-teste. Ao final do experimento foi avaliado o desempenho produtivo, a composição química da carcaça, e a presença da levedura e de bactérias heterotróficas totais no trato gastrointestinal dos peixes. A avaliação do efeito dos níveis de levedura das dietas sobre os parâmetros de desempenho produtivo, índices de rendimento corporal, composição química da carcaça e bactérias totais intestinais foi realizada por meio de análise de variância e de regressão ao nível de 10 % de probabilidade. Para os resultados da análise microbiológica da presença da levedura no trato gastrointestinal

dos peixes, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis a 10% de significância. Foi observado efeito linear decrescente dos níveis de levedura sobre o consumo diário de ração e conversão alimentar. Houve efeito quadrático dos níveis de levedura para a proteína bruta, matéria seca e energia bruta da carcaça dos peixes. Não houve influencia dos níveis de levedura sobre os demais parâmetros avaliados. Observou-se crescimento da levedura do trato gastrointestinal, nos meios de cultura, com a suplementação das dietas. Com os dados obtidos, conclui-se a possibilidade da utilização da levedura como probiótico, por melhorar a conversão alimentar e a qualidade da carne dos animais.

ABSTRACT

MIRANDA, Thiago Luiz Versiani, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June 2012. **Yeast *Saccharomyces cerevisiae* in diets for lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)**. Advisor: Ana Lucia Salaro. Co-advisors: Flavia Maria Lopes Passos and Jener Alexandre Sampaio Zuanon

The replacement of chemotherapeutics by the probiotics in diets for aquatic organisms, has shown satisfactory results due to the improved performance and immune systems of animals, and no contamination in the aquatic environment by these chemotherapeutic waste. Probiotics are assigned to the functions of inhibition or competitive exclusion of microorganisms and positive action in the nonspecific immune response. Among probiotics, yeast alcohol, *Saccharomyces cerevisiae*, stands out for presenting results beneficial to the fish's health, and features such as biosecurity, ease of incorporation and resistance to processes of preparation of diets, and is a co-product of sugar and alcohol agro-industry. Among the many species of fish, the lambari is a specie that is pretty sensitive to the management practices, which hinders the establishment of technological packages for its production in captivity. Therefore, this study aimed to evaluate the probiotic effect of the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, on growth performance, carcass composition, and colonization of the gastrointestinal tract of fish. To this end, the experiment was carried out in completely randomized design with six treatments (0.00, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 and 2.50% of the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, in the diet) and five replicates with 30 fish per experimental unit. Juveniles of lambaris-do-rabo-amarelo, with an average weight of 1.89 ± 0.10 g were divided into 30 circular tanks (65L of water) at a density of 30 fish per aquarium, with constant aeration and controlled temperature ($26 \pm 1,0$ ° C). Fish were fed daily for 90 days with the test diets. At the end of the experiment, the productive performance, carcass composition, and the colonization of the gastrointestinal tract of the fish were evaluated. The evaluation of the effect of yeast levels in the diet on the growth performance parameters, yield body indexes, carcass composition and total intestinal bacteria was performed by analysis of variance and regression at 10% probability. For the results of microbiological analysis of the presence of yeast in the intestinal tract of fish, it was applied the nonparametric Kruskal-Wallis test a 10% significance. It was observed negative linear effect of the levels of yeast on feed intake and feed conversion ratio. There were quadractic effect of the levels of yeast for crude protein, dry matter and

gross energy of the fish's carcass. There was no influence of yeast levels on the other parameters. It was observed growth of yeast in the gastrointestinal tract, in culture media with supplementation of diets. With the data obtained it appears the possibility of using yeast as a probiotic, for improving feed conversion and meat quality of the fish.

INTRODUÇÃO GERAL

A demanda mundial por alimentos de qualidade vem mudando o cenário das pesquisas na produção animal, direcionando-as para estudos que visam a melhoria no desempenho e na saúde dos animais por meio da inclusão de diversas classes de aditivos em dietas. Dentre os aditivos destacam-se os nutricionais, tecnológicos, sensoriais e zootécnicos.

Os aditivos nutricionais têm como finalidade ajustar o balanço nutricional das dietas às exigências metabólicas do animal, melhorando a eficiência da utilização dos nutrientes da dieta. Já os aditivos tecnológicos têm como finalidade melhorar a qualidade e estabilidade das dietas. Os aditivos sensoriais tornam as dietas mais atrativas e palatáveis e os zootécnicos promovem a melhoria nos desempenhos produtivo e reprodutivo, assim como na saúde e qualidade da carcaça dos animais

Dentre os aditivos zootécnicos, os antimicrobianos foram utilizados por décadas como promotores de crescimento na produção animal. Entretanto, o uso de tais substâncias, pode provocar a seleção de bactérias patogênicas, resistência cruzada, ou mesmo acumular resíduos nos animais e no meio ambiente. Desta forma, a União Européia proibiu a utilização de qualquer classe de antibióticos como promotor de crescimento na produção animal, o que vem tornando-se tendência mundial. Assim, como alternativa ao uso de antimicrobianos em dietas para os animais, destacam-se os probióticos, prebióticos e simbióticos por atuarem como imunomoduladores e melhoradores da microbiota intestinal.

Os probióticos têm sido amplamente utilizados na produção animal em função da atuação na redução da incidência de doenças, melhoria da conversão alimentar e do ganho de peso dos animais e em especial, na aquicultura pela sua atuação na saúde dos peixes e na microbiota aquática. Entre os probióticos, a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, também conhecida como levedura do álcool, destaca-se por apresentar resultados benéficos à saúde dos peixes. A levedura do álcool apresenta características como biossegurança, facilidade de incorporação e resistência aos processos de confecção das dietas, assim como é um coproduto da indústria sucroalcooleira, com boa disponibilidade de mercado.

Dentro da piscicultura nacional, os animais pertencentes ao gênero *Astyanax*, vem ganhando destaque em função da adaptação aos sistemas de cultivo e às suas características desejáveis como, ciclo de vida curto, hábito alimentar onívoro,

maturidade sexual precoce e reprodução em cativeiro sem necessidade de indução hormonal. A espécie conhecida como lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax altiparanae* é muito apreciada como petisco pela população brasileira e é encontrada em grande parte do território nacional, sendo distribuída desde o nordeste brasileiro até a Bacia do Prata. Entretanto, ainda são necessários estudos que visem melhorar a saúde e reduzir o estresse dos animais em condições de cativeiro, principalmente quando submetidos a manejos intensivos.

Desta forma, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito probiótico da levedura *Saccharomyces cerevisiae* quando adicionada em dietas para lambaris-do-rabo-amarelo, em condições ótimas de cultivo.

ESTADO DA ARTE

Promotores de crescimento

O aumento no consumo (FAO 2008) associado à estagnação dos recursos pesqueiros (Crepaldi et al.2006; FAO, 2007) impulsionaram a demanda por pescado proveniente da aqüicultura. Para atender esse mercado crescente, a aqüicultura vem tornando-se cada vez mais intensiva, entretanto, a intensificação dos sistemas aquaculturais pode, em muitas ocasiões, favorecer a incidência de doenças (Crepaldi et al.2006; Z. Qi et al. 2009), principalmente as ocasionadas por microorganismos oportunistas. Na tentativa de contornar tal situação, o uso de antibióticos como substâncias profiláticas ou promotoras de crescimento (Van den Bogaard and Stobberingh, 2000) cresceu de forma indiscriminada em função dos resultados positivos da sua administração (Acar et al., 2000; Witte, 2000; Wierup, 2001; Phillips et al., 2004), o que pode ter ocasionado o surgimento de linhagens bacterianas resistentes a esses quimioterápicos (Fuller, 1989), provocando desequilíbrio da simbiose entre o hospedeiro e sua microbiota gastrointestinal (Mudler, 1991). Tal pratica muitas vezes não teve um embasamento científico que assegurasse seu uso.

Assim, por muito tempo, foi comum o uso de quimioterápicos na aqüicultura na tentativa de minimizar a proliferação de bactérias indesejáveis, e as perdas por doenças (Meurer et al., 2008). Porém, a utilização de tais substâncias em dosagens subterapêuticas, pode aumentar a pressão de seleção, possibilitando o surgimento de cepas de bactérias resistentes (Vázquez et al., 2005; Cabello, 2006; Hisano et al., 2007), resistência cruzada, ou mesmo acumular resíduos nos animais e no meio ambiente (Boyd & Massaunt, 1999; Hisano et al. 2007).

Os quimioterápicos podem também vir a comprometer a microbiota normal do trato gastrintestinal dos animais (Austin & Al Zahrani 1988; Lesel et al. 1989; Mulder, 1993; Moffitt & Mobin 2006; Bakke-McKellep et al. 2007), o que pode provocar desequilíbrio da mesma, favorecendo a proliferação de patógenos (Ziemer, Gibson, 1998). Entretanto, ainda é comum o uso dessas substâncias em dosagens terapêuticas para o tratamento de várias doenças na aqüicultura (Van den Bogaard and Stobberingh, 2000; Gram et al., 1999).

Atualmente, diversos produtos estão sendo desenvolvidos com o intuito de substituir o uso dos antibióticos como promotores de crescimento e profiláticos, e dentre eles, destacam-se os chamados alimentos funcionais, que atuam em prol da melhoria da saúde dos animais. (Sanders, 1998). Assim, vem tornando-se cada vez mais frequente o uso de alimentos funcionais que apresentam melhorias na saúde dos hospedeiros (Oliveira, et. al., 2002). Dentro dessa classe de produtos, os probióticos, (Roberfroid, 2002) vem sendo estudados em função da eficiência no desenvolvimento dos microrganismos benéficos, promovendo a redução da ação dos patógenos e atuando na resposta imune dos animais (Madsen *et al.* 1999; Sakai, 1999; O'Mahony *et al.* 2001; McCarthy *et al.* 2003; Pena *et al.* 2005).

Probióticos

O termo probiótico é derivado do prefixo latino, pró, que significa “a favor” e do sufixo grego bio, que significa “vida” e pode ser definido como substâncias que atuam na “pró-vida” dos hospedeiros (Zivkovic, 1999; Coppola & Gil Turnes, 2004). Essas substâncias compostas por organismos vivos, passam a ser utilizadas como alternativa aos quimioterápicos, que eram até então, incorporados nas dietas ou ministrados na água de cultivo dos animais, com finalidade terapêutica, profilática e, ou como promotores de crescimento. Assim, cria-se a possibilidade da inclusão de microrganismos não patogênicos capazes de atuar de forma benéfica à saúde do hospedeiro, sem o comprometimento do meio ambiente (Verschuere *et al.*, 2000; Wang *et al.* 2008).

Para um produto ser considerado como probiótico, este deve apresentar características fundamentais como a de manter-se vivo e viável no trato gastrointestinal e atuar benéficamente no hospedeiro (Gatesoupe *et al.*, 1999), não ser patogênico à espécie hospedeira nem aos humanos, além de não transportar junto a si genes resistentes a antibióticos (Havenaar *et al.*, 1992; Salminen *et al.*, 1998; Ouwehand *et al.*, 1999; Saarela *et al.*, 2000; Holzapfel & Schillinger, 2002).

Os probióticos estão relacionados à prevenção de enfermidades (Sakai *et al.*, 2001; Ortuño *et al.*, 2002; Li & Gatlin, 2003, 2004; Li *et al.*, 2004), a diminuição da carga bacteriana por exclusão competitiva ou produção de substâncias inibidoras, a estimulação do sistema imunológico inespecífico (Balcázar *et al.* 2006; Taoka *et al.* 2006a,b; Panigrahi & Azad 2007; Gómez & Balcázar 2008), além de produzirem

enzimas digestivas suplementares e auxiliares na digestão de nutrientes, como os ácidos graxos e a proteína das dietas, e disponibilizar vitaminas (Sugita et al., 1996, 1997; 1998; Vershuere et al., 2000; Olafsen, 2001; Vaughan et al., 2002; Tovar et al., 2002; Lara-Flores et al., 2003; Vine, 2004; Waché et al., 2006; Gatesoupe 2008; Gómez and Balcázar, 2008; Ringø, 2008; Tinh et al., 2008). Entretanto, os mecanismos de ação dos probióticos ainda não estão completamente elucidados, tornando-se necessários estudos para a melhor compreensão da sua atuação e, portanto, da relação entre o hospedeiro, microbiota residente e microrganismo probiótico (Maasen et al. 2000; Ohashi & Ushida, 2009). Espera-se que, o microrganismo probiótico tenha a capacidade de se aderir ao trato gastrointestinal do hospedeiro e colonizá-lo (Ohashi and Ushida, 2009). Portanto, para que se possa adotar um produto como probiótico, deve-se associar o máximo de características positivas a esse microrganismo ou mesmo trabalhar com várias espécies ou cepas de microrganismos para que estes atuem de maneira complementar (Patterson and Burkholder, 2003; Merrifield et al. 2010) sobre o crescimento e a saúde do animal.

Os mecanismos mais conhecidos de atuação dos probióticos podem ser divididos em fisiológicos, microbiológicos e nutricionais (Fuller, 1989; Saad, 2006). A ação fisiológica pode estar relacionada à imunomodulação, pela estimulação da resposta pró e antiinflamatória (Delcenserie et al. 2008). O probiótico pode interagir com as placas de Peyer e às células do epitélio intestinal, estimulando ou inibindo os linfócitos B produtores de IgA (imunoglobulinas A) e a migração de células T do intestino (Perdigón & Holgado, 2000; Madsen et al. 1999; O'Mahony et al. 2001; McCarthy et al. 2003; Pena et al. 2005; Isolauri et al. 2001; Vaarala 2003; Delcenserie et al. 2008), indicando que o probiótico pode atuar melhorando a barreira imunológica da mucosa intestinal pelo aumento da atividade fagocitária dos macrófagos inespecíficos (Cross, 2002). Neste caso, o probiótico ainda pode atenuar a resposta imune em situações de efeito inflamatório drástico, e conseqüentemente reduzir o gasto energético pelos animais (Madsen et al. 1999; O'Mahony et al. 2001; McCarthy et al. 2003; Pena et al. 2005; Carol et al. 2006).

A ação microbiológica de um probiótico pode se dar pela exclusão competitiva, na qual compete com os microrganismos patogênicos por sítios de fixação e pela disponibilidade de nutrientes, impedindo sua ação durante a passagem pelo trato digestório (Havenaar et al., 1992; Ouwehand et al., 1999; Balcázar, 2002; Cross, 2002).

A ação nutricional consiste na maior disponibilização de nutrientes, como os ácidos graxos de cadeia curta, e também algumas vitaminas (Sakata, 1990, Ohashi &

Ushida, 2009). Alguns probióticos também apresentam a capacidade de atuar na melhoria da digestibilidade da proteína, resultando em melhores respostas de desempenho e composição química de carcaça dos animais (De Schrijver and Ollevier, 2000; Tovar et al., 2002; Lara-Flores et al., 2003; Waché et al., 2006). A ação nutricional, pode ainda, desencadear efeitos fisiológicos, uma vez que, a melhoria na disponibilização desses nutrientes, pode exercer importantes funções (Cherbut et al. 1997; Edwards, 1997; Sakata, 1997) como o desenvolvimento de células epiteliais do trato gastrointestinal, aumentando assim a superfície de absorção e também a espessura da mucosa intestinal (Tsukahara et al. 2003).

Entre os vários microrganismos utilizados como probióticos na produção animal, destacam-se o grupo das bactérias ácido lácticas, como as dos gêneros *Lactobacillus sp.* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. gallinarum*, etc) e *Enterococcus sp.* (*E. faecalis*, *E. faecium*). Também é comum o uso do gênero *Bifidobacterium sp.*, e de algumas leveduras, destacando-se as do gênero *Saccharomyces sp.* (*S. cerevisiae* e *S. boulardii*) (Holzapfel et al. 2001).

***Saccharomyces cerevisiae* como probiótico**

Dentre os microrganismos utilizados como probiótico na produção animal, a levedura do álcool, *Saccharomyces cerevisiae*, destaca-se por apresentar características como a atuação benéfica à saúde dos animais (Sakai et al., 2001; Ortuño et al., 2002; Li & Gatlin, 2003, 2004). Acrescido a isso, essa levedura apresenta boa disponibilidade, é de fácil incorporação às dietas e resistente aos processos de confecção das dietas (Hisano et al., 2004). Entretanto, seus efeitos sobre os organismos aquáticos ainda são pouco estudados (Patra & Mohamed, 2003).

Apesar da levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresentar considerável quantidade de carboidratos e proteínas (Cozzolino et al., 1982), boa composição de aminoácidos (Miyada, 1987; Scapinello et al., 1997) e vitaminas do complexo B (Butulo, 2001), sua parede celular espessa e de composição rígida, dificulta a ação das enzimas digestivas, o que pode prejudicar sua utilização como alimento e, portanto, limitar seu uso. Porém, quando utilizada como probiótico, pode atuar melhorando o sistema imune inespecífico e aumentando a resistência contra infecções bacterianas (Sakai et al., 2001; Ortuño et al., 2002; Li & Gatlin, 2003, 2004; Li et al., 2004).

Entretanto, acredita-se que a levedura não tenha a capacidade de colonização do trato gastrointestinal do hospedeiro (Ohashi and Ushida, 2009) e, portanto, a administração desse probiótico na dieta deve ser contínua (Havenaar et al., 1992; Ouwehand et al., 1999; Cross, 2002; Coppola & Turnes, 2004).

Vários pesquisadores (Castagliuolo et al., 1999; Dahan et al., 2003; Van der Aa Kühle et al., 2005) afirmam que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* também pode atuar na produção de substância inibitória ao crescimento de outros microrganismos. Entretanto, de acordo com Martins et al. (2005), a mesma não atua na produção de tais substâncias.

***Saccharomyces cerevisiae* em dietas para peixes**

O uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* ainda é pouco explorado na aquicultura, mesmo já sendo observada, por alguns autores, a sua capacidade de melhorar o desempenho produtivo e a resposta imune dos peixes (Ortuño et al., 2002; Li e Gatlin, 2003; Hisano et al., 2004). Em trutas arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*), a incorporação da levedura nas dietas proporcionou melhores resultados de sobrevivência, conversão alimentar e ganho em peso dos peixes, tanto na fase inicial quanto na produção final (Barnes e Durben, 2010). Resultados semelhantes para o crescimento e eficiência alimentar foram observados em alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentados com dietas contendo *Saccharomyces cerevisiae*, comprovando o efeito promotor de crescimento desta levedura para esta espécie (Lara-Flores et al.; 2003).

Embora, vários trabalhos apontem para os efeitos positivos dessa levedura sobre o desempenho produtivo dos peixes, ainda é discutido a necessidade de se manter os animais em condições sub-ótimas de cultivo, ou mesmo, em desafio sanitário, para que a levedura possa expressar seu efeito probiótico (Abdel-Tawwab et al., 2008). Neste aspecto, Abdel-Tawwab et al., (2008) observaram influência positiva da inclusão da levedura *S. cerevisiae* sobre o crescimento, eficiência alimentar e sobrevivência de alevinos de tilápia-do-nilo, após exposição à *Aeromonas hydrophila*. Entretanto, em alevinos de tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dieta contendo levedura, mesmo submetidos a desafio sanitário, não apresentaram melhorias no desempenho produtivo quando comparados ao grupo controle que receberam dieta ausente de levedura (Meurer et al., 2007).

***Astyanax altiparanae* (lambari-do-rabo-amarelo)**

A espécie *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000), abundante nos rios brasileiros, foi por muitos anos classificada como *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758). É uma espécie de cardume, e se caracteriza por apresentar hábito alimentar onívoro (Porto-Foresti, 2001; Adrian et al., 2001), o que facilita sua criação em cativeiro, uma vez que, torna-se possível a substituição da proteína animal pela vegetal na formulação de suas dietas (Salaro, et al, 2008).

É um peixe com boa aceitação no mercado, quer como petisco, isca para a pesca esportiva (Hayashi et al., 2004) ou matéria prima para produção de farinha de peixe (Porto-Foresti et al., 2001; Porto-Foresti et al, 2010).

O lambari-do-rabo-amarelo, também conhecido como tambuí, piaba ou piabinha é um peixe de pequeno porte, que apresenta dimorfismo sexual aparente, onde os machos possuem corpo esguio e ventre pouco desenvolvido quando comparados com as fêmeas maduras. Os machos também apresentam espículas ásperas na nadadeira anal, na época de reprodução (Porto-Foresti et al., 2005; Almeida, 2007; Porto-Foresti et al, 2010). Essa espécie se reproduz em cativeiro, sem a necessidade do uso de hormônios e seu ciclo de produção é relativamente curto (Cotan et al, 2006), sendo possível obter animais prontos para o abate com cerca de três meses. Essas características permitem a produção de mais de um ciclo por ano, o que torna essa espécie de grande potencial econômico para a aquicultura nacional (Agostinho et al., 1984; Vilela e Hayashi, 2001; Meurer et al., 2005; Tavares, 2011, Abmurad, et. 2011).

Baseado no exposto acima, com esta pesquisa objetivou-se avaliar o potencial da levedura, *Saccharomyces cerevisiae*, como probiótico para o lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). Assim, o presente estudo será apresentado sob a forma de artigo intitulado: “Levedura *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico em dietas para lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)” o qual foi redigido segundo as normas para publicação da Revista Aquaculture.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acar, J., Casewell, M., Freeman, J., Friis, C., Goossens, H., 2000. Avoparcin and virginiamycin as animal growth promoters: a plea for science in decisionmaking. *Clinical Microbiology and Infection* 6 (9), 477–482.

Agostinho, C. A., Molinari, S., Agostinho A., & Verani, J., 1984, Ciclo reprodutivo e primeira maturação sexual de fêmeas do lambari *Astyanax bimaculatus* (L.) (*Osteichthyes-Characidae*) do rio Ivaí. Estado do Paraná. *Revista Brasileira de Biologia*, 44(1), 31-36.

Almeida R.B.C., 2007. *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) como modelo biológico de espécie de peixe para exploração zootécnica e biomanipulação. Tese (Doutor em Ciências Biológicas) Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, BRASIL.

Austin, B. & Al - Zahrani, A.M.J., 1988. The effect of antimicrobial compounds on the gastro – intestinal microflora of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 33, 1–14.

Bakke-McKellep, A.M., Penn, M.H., Salas, P.M., Refstie, S., Sperstad, S., Landsverk, T., Ringø, E. & Krogdahl, A., 2007. Effects of dietary soyabean meal, inulin and oxytetracycline on intestinal microbiota and epithelial cell stress, apoptosis and proliferation in the teleost Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Brit. J. Nutr.*, 97, 699–713.

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

Balcázar, J.L.; De Blas, I.; Rui'z-Zarzuela, I.; Cunningham, D.; Vendrell, D. & Mu'zquiz, J.L., 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Vet. Microbiol.*, 114, 173–186.

Barnes, M.E. & D.J. Durben., 2010. An evaluation of DVAqua® , a full-fermented yeast culture, during long-term hatchery rearing of McConaughy strain rainbow trout. *Aquaculture Nutrition* vol 16, 299-304

Boyd, C.E.; Massaut, L., 1999. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. *Aquaculture Engineering*, v.20, p.113-132.

Butolo, J.E., 2001. Leveduras vivas e termolizadas na alimentação animal. In: Simpósio sobre ingredientes alternativos na alimentação animal, 2001, Campinas. Anais. Campinas, p.191-198.

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

Carol M, Borrueal N, Antolin M, Llopis M, Casellas F, Guarner F, Malagelada JR., 2006. Modulation of apoptosis in intestinal lymphocytes by a probiotic bacteria in Crohn's disease. *Journal of Leukocyte Biology* 79, 917–922.

Castagliuolo, I., Riegler, M.F., Valenick, L., LaMont, J.T., Pothoulakis, C., 1999. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of Clostridium difficile toxins A and B in human colonic mucosa. *Infection and Immunity* 67 (1), 302–307.

Cherbut C, Aube AC, Blottiere HM, Galmiche JP., 1997. Effects of short-chain fatty acids on gastrointestinal motility. *Scandinavian journal of gastroenterology* 222 (Suppl), 58–61.

Coppola, M. de M., Turnes, C. G., 2004. Probióticos e resposta imune *Ciência Rural*, Santa Maria, v.34, n.4, p.1297-1303, jul-ago.

Cotan, J.L.V.; Lanna, E.A.T.; Bomfim, M.A.D.; Donzele, J.L.; Ribeiro, F.B.; Serafini, M.A., 2006. Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari tambuí. *R. Brás. Zootec.*, v.35, p.634-640.

Cozzolino, S.M.E., 1982. Valor nutritivo da biomassa de *Saccharomyces cerevisiae*. Estudos em gerações sucessivas de ratos: São Paulo, SP. USP, 1982, p.147. (Doutorado em ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo.

Crepaldi, D. V.; Faria, P. M. C.; Teixeira, E. De A.; Ribeiro, L. P.; Costa, A. A. P.; De Melo, D. C.; Cintra, A. P. R.; Prado, S. De A.; Costa, F. A. A.; Drumond, M. L. ; Lopes, V. E.; De Moraes, V. E., 2006. A situação da Aquicultura e da pesca no Brasil e no mundo - World and Brazil situation of fisheries and Aquaculture *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.81-85, jul./dez.

Cross, M.L., 2002. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. *Immunol. Medic. Microbiol.*, Amsterdam, v. 34, n. 4, p.245-253.

Dahan, S., Dalmasso, G., Imbert, V., Peyron, J.-F., Rampal, P., Czerucka, D., 2003. *Saccharomyces boulardii* interferes with enterohemorrhagic *Escherichia coli*-induced signaling pathways in T84 cells. *Infection and immunity* 71 (2), 766–773.

De Schrijver R, Ollevier F., 2000. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of *Vibrio proteolyticus*. *Aquaculture*, 186: 107-116.

Delcenserie V, Martel D, Lamoureux M, Amiot J, Boutin Y, Roy D., 2008. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Current Issues in Molecular Biology* 10, 37–54.

Dibner, J.J; Richards, J.D., 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science* 84,634–643.

Edwards CA., 1997. Short chain fatty acid. Production and effects on gut motility. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 427, 155–167 .

El-Dakar, A.Y., Shalaby, S.M. & Saoud, I.P., 2007. Assessing the use of a dietary probiotic/prebiotic as an enhancer of spinefoot rabbitfish *Siganus rivulatus* survival and growth. *Aquacult. Nutr.*,13, 407–412.

FAO – Fisheries Department, Fishery Information Data and Statistics Unit. *Fishstat plus: universal software for fishery statistical time series*, 2007.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department. *Statistics*. 2008.

Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, Oxford, v.66, p.365-378.

Garutti, V. & Britski, H.A., 2000. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: *Characidae*) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS*, 13, 65-88. Porto Alegre, RS, Brasil.

Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, v.180, p.147-165.

Gatesoupe, F.J., 2008. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 14, 107–114.

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

Gómez, G.D., Balcázar, J.L., 2008. A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish *Fems. Immunol. Med. Microbiol.* 52, 145–154.

Gram, L.; Melchiorson, J.; Spanggard, B.; Hubner, I.; Nielsen, T.F., 1999. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. *Applies and Environmental Microbiology*, v.65, n.3, p.969-973.

Havenaar, R.; Huis In't veld, M. J.H. Probiotics: a general view. In: WOOD, B.J.B. Lactic acid bacteria in health and disease 1. Amsterdam : Elsevier Applied Science, 1992. p.151-170.

Hayashi, C., Meurer, F., Boscolo, W.R., Lacerda, C.H.F. & Kavata, L.C.B., 2004. Freqüência de Arraçamento para Alevinos de Lambari do Rabo- Amarelo (*Astyanax bimaculatus*). Revista Brasileira de Zootecnia, 33, 21-26.

Heuer, O.E.; Hammerum, A.M.; Collignon, P.; Wegener, H.C., 2006. Human health hazard from antimicrobial-resistant enterococci in animals and food. Clinical Infectious Diseases 43, 911–916.

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. Inst. Pesca, São Paulo, 33(1): 35 - 42

Hisano, H.; Narváez-Solarte, W. V.; Barros, M. M.; Pezzato, L. E., 2007. Desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-nilo alimentados com levedura e derivados Pesq. agropec. bras., Brasília, v.42, n.7, p.1035-1042, jul.

Hisano, H.; Pezzato, L.E.; Barros, M.M.; Freire, E.S.; Gonçalves, G.S.; Ferrari, J.E.C. Zinco e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Acta Scientiarum - Animal Sciences, v.26, p.171-179, 2004.

Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H, Salminen S., 2001. Probiotics: effects on immunity. American Journal of Clinical Nutrition 73 (Suppl), 444S–450S.

Lara-Flores, M., Olvera-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, 193–201.

Lesel, R., de la Nouë, J. & Choubert, G., 1989. Fecal bacterial flora of rainbow trout under antibiotic treatment: effect of the number of pyloric caeca and the lipid content of food. In: Aquaculture – A Biotechnology in Progress, Vol. 2 (De Pauw, N., Jaspers, E., Ackerfors, H. & Wilkins, N. eds), pp. 897–903. European Aquaculture Society, Bredene, Belgium.

Li, P.; Gatlin, D.M., 2003. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). Aquaculture, v.219, p.681-692.

Li, P.; Gatlin, D.M., 2004. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*, v.231, p.445-456.

Li, P.; Lewis, D.H.; Gatlin, D.M., 2004. Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Fish and Shellfish Immunology*, v.16, p.561-569.

Maassen, C.B.M., 2000. Strain-dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered *Lactobacillus* strains. *Vaccine*, Oxford, v.18, n.23, p.2613-2623.

Madsen KL, Doyle JS, Jewell LD, Tavernini MM, Fedorak RN. 1999. *Lactobacillus* species prevents colitis in interleukin 10 gene-deficient mice. *Gastroenterology* 116, 1107–1114.

Martins, F. dos S., Barbosa, F. H. F., Penna, F. J., Rosa, C. A., Nardi, R. M. D., Neves, M. J., Nicoli, J. R., 2005. Estudo do potencial probiótico de linhagens de *saccharomyces cerevisiae* através de testes in vitro. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*. Volume 5- Número 2 - 2º Semestre.

McCarthy J., O'Mahony L., O'Callaghan L., Sheil B., Vaughan E.E., Fitzsimons N., Fitzgibbon J., O'Sullivan G.C., Kiely B., Collins J.K., Shanahan F., 2003. Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine balance. *Gut* 52, 975–980.

Meurer, F.; Hayashi, C.; Costa, M.M.; Freccia, A.; Mauerwerk, M.T., 2007. *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia-do-Nilo submetidos a desafio sanitário. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.5, p.1219-1224.

Meurer, F.; Hayashi, C.; Costa, M.M.; Mascioli, A.S.; Colpini, L.M.S.; Freccia, A., 2008. Levedura como probiótico na reversão sexual da tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.9, n.4, p.804-812.

Miyada, V.S., 1987. A levedura seca na alimentação de suínos: estudos adicionais sobre seu valor protéico e vitamínico. Piracicaba. (Tese de livre docência). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo.

Moffitt, C.M. & Mobin, S.M.A., 2006. Profile of Microflora of the Posterior Intestine of *Chinook Salmon* before, during, and after Administration of Rations with and without Erythromycin. *N. Am. J. Aquacult.*, 68, 176–185.

Mulder, R.W.A.W. ,1991. Probiotics as a tool against Salmonella contamination. *Misset World Poult.*, 7:36-37.

Mulder, R.W.A.W., 1993. The use of the probiotics in food-animal practice. *Veterinary Medicine*, v.88, p.282-288,

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

O'Mahony L., Feeney M., O'Halloran S., Murphy L., Kiely B., Fitzgibbon J., Lee G., O'Sullivan G., Shanahan F., Collins J.K., 2001. Probiotic impact on microbial flora, inflammation and tumour development in IL-10 knockout mice. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 15, 1219–1225.

Ohashi, Y. and Ushida, K., 2009. Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Animal Science Journal* 80, 361–371.

Olafsen, J.A., 2001. Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquacult.* 200, 223–247.

Oliveira, M.N.; Sivieri, K.; Alegro, J.H.A.; Saad, S.M.I., 2002. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, São Paulo, v.38, n.1, p.1-21.

Ortuño, J.; Cuesta, A.; Rodríguez, A.; Esteban, M.A.; Meseguer, J. , 2002. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Spaurus auratus L.*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.85, p.41-50.

Ouwehand, A.C. et al., 1999. Probiotics: mechanisms and established effects. *International Dairy Journal*, Amsterdam, v.9, n.1, p.43- 52.

Panigrahi, A. & Azad, I.S., 2007. Microbial intervention for better fish health in aquaculture: the Indian scenario. *Fish Physiol. Biochem.*, 33, 429–440.

Patterson, J.A., Burkholder, K.M., 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Sci.* 82, 627–631.

Pena, J.A., Rogers, A.B., Ge, Z., Ng, V., Li, S.Y., Fox, J.G., Versalovic J., 2005. Probiotic *Lactobacillus* spp. diminish *Helicobacter hepaticus*-induced inflammatory bowel disease in interleukin-10-deficient mice. *Infection and Immunity* 73, 912–920.

Perdigón, G.; Holgado, A.P.R., 2000. Mechanisms involved in the immunostimulation by lactic acid bacteria. In: Fuller, R.; Perdigón, G. *Probiotics* 3:

Immunodulation by the Gut Microflora and Probiotics. Dordrecht : Kluwer Academic, p.213-233.

Phillips, I., Casewell, M., Cox, T., De Groot, B., Friis, C., Jones, R., Nightingale, C., Preston, R., Waddell, J., 2004. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53, 28–52.

Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R.B., Senhorini, J.A. & Foresti, F., 2010. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: Espécies nativas para piscicultura no Brasil. (Baldisserotto, B., Gomes, L.C. ed), 2 ed, pp 101-115. UFSM, Santa Maria, RS, BRASIL.

Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R.B., Senhorini, J.A. & Foresti, F., 2005. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: Espécies nativas para piscicultura no Brasil. (Baldisserotto, B., Gomes, L.C. ed), 1 ed, pp 05-120. UFSM, Santa Maria, RS, BRASIL.

Porto-Foresti, F., Oliveira, C., Foresti, F. & Almeida, R.B.C., 2001. Cultivo do lambari: uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. *Panorama da Aqüicultura*, 67, 15-19.

Qi, Z., Xiao-Hua Zhang , Boon, N., Bossier, P., 2009. Probiotics in aquaculture of China-Current state, problems and prospect. *Aquaculture* 290 , 15–21.

Ringø, E., 2008. The ability of carnobacteria isolated from fish intestine to inhibit growth of fish pathogenic bacteria: a screening study. *Aquacult. Res.* 39, 171–180.

Roberfroid, M.B., 2002. Functional food concept and its application to prebiotics. *Dig. Liver Dis.*, Rome, v.34, suppl.2, p.S105-S110.

Saad, S. M. I., 2006. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 42, n. 1, jan./mar.

Saarela, M. et al., , 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, Amsterdam, v.84, n.3, p.197-215.

Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172, 63–92.

Sakai, M.; Taniguchi, K.; Mamoto, K.; Ogawa, H.; Tabata, M., 2001. Immunoestimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Disease*, v.24, p.433-438.

Sakata T., 1997. Influence of short-chain fatty acids on intestinal growth and functions. In: Kristchevsky D, Bonfield C (eds), *Dietary Fiber in Health and Disease*, pp. 191–199. Plenum Press, New York.

Sakata, T., 1990. Microflora in the digestive tract of fish and shellfish. In: Lesel, R. (Ed.), *Microbiology in Poecilotherms*. Elsevier, Amsterdam, pp. 171–176.

Salaro, A.L., Saraiva, A., Zuanon, J.A.S., Balbino, E.M., Moraes, S.S.S. & Kasai, R.Y.D., 2008. Níveis protéicos e energéticos em dietas para lambari-do-rabovermelho, *Astyanax fasciatus*. In: *Tópicos especiais em biologia aquática e aquicultura II*, cap.7, pp 87-93. Aquaciência, Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Jaboticabal, SP, BRASIL.

Salminen, S.; Ouwehand, A.C.; Isolauri, E., 1998. Clinical applications of probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, Amsterdam, v.8, n.5-6, p.563-572.

Sanders, M. E., 1998. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria *Inst. Dairy J.* , Amsterdam, v. 8, p. 341-347.

Scapinello, C.; Furlan, A.C.; Oliveira, P.B.; Faria, H.G.; Pedro, M.R.S. , 1997. Desempenho de coelhos em crescimento alimentados com levedura de recupedieta (*Saccharomyces cerevisiae*) seca pelo método spray-dry. *Revista Unipar*, v.19, n.3, p.913-921.

Souza, J.R.; Andrade, O.R. , 1983. Dados preliminares sobre nutrição de *Astyanax bimaculatus* (LINNAEUS, 1958), Pisces: Characidae. *Seiva*, v.2, n.90, p.81-83.

Sugita, H., Hirose, Y., Matsuo, N., Deguchi, Y., 1998. Production of the antibacterial substance by *Bacillus* sp. strain NM 12, an intestinal bacterium of Japanese coastal fish. *Aquaculture* 165, 269–280.

Sugita, H., Kawasaki, J., Deguchi, Y., 1997. Production of amylase by the intestinal microflora in cultured freshwater fish. *FEMS Lett. Appl. Microbiol.* 24,105–108

Sugita, H., Shibuya, K., Shimooka, H., Deguchi, Y., 1996. Antibacterial abilities of intestinal bacteria in freshwater cultured fish. *Aquaculture* 145, 195–203.

Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.-Y., Jeon, M.-J., Bai, S.C., Lee, W.-J., Yuge, K. & Koshio, S., 2006a. Growth, stress tolerance and nonspecific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculating system. *Fishes. Sci.*, 72, 310–321.

Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.-Y., Kim, S.-M., Park, S.-I., Yoshikawa, T. & Sakata, T., 2006b. Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish. Sci.*, 72, 755–766.

Tinh, N.T.N., Dierckens, K., Sorgeloos, P., Bossier, P., 2008. A review of the functionality of probiotics in the larviculture food chain. *Mar. Biotechnol.* 10, 1–12.

Tovar, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F.J., Vázquez-Juárez, R., Lésel, R., 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture* 204, 113–123.

Tsukahara T, Iwasaki Y, Nakayama K, Ushida K. ,2003. Stimulation of butyrate production in the large intestine of weaning piglets by dietary fructooligosaccharides and its influence on the histological variables of the large intestinal mucosa. *Journal Nutritional Science and Vitaminology* 49, 311–314.

Vaarala O. ,2003. Immunological effects of probiotics with special reference to lactobacilli. *Clinical and Experimental Allergy* 33, 11634–11640.

Van Den Bogaard, A.E., Stobberingh, E.E. , 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics: links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents* 14, 327–335.

Van der Aa Kühle, A., Skovgaard, K., Jespersen, L., 2005. In vitro screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and foodborne *Saccharomyces cerevisiae* strains. *International Journal of Food Microbiology* 101, 29–39.

Vaughan, E.E., de Vries, M.C., Zoetendal, E.G., Ben-Amor, K., Akkermans, A.D.L., De Vos, W.M., 2002. The intestinal LABs. *Antonie van Leeuwenhoek* 82, 341–352.

Vaz, M. M., Torquato, V. C., Barbosa, N. D. C., 2000. Companhia Energética de Minas Gerais, Fundação Centro Tecnológico De Minas Gerais. Guia ilustrado de peixes da bacia do rio Grande. Belo Horizonte: CEMIG/CETEC, 144p.:il, mapa.

Vázquez , J.A.; González , M.P.; Murado, M.A., 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. *Aquaculture*, v.245, p.149-161.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 655–671.

Vilela, C.; Hayashi, C. , 2001. Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. *Acta Scientiarum*, v.23, n.2, p.491-496.

Vine, N.G., Leukes, W.D., Kaiser, H., Daya, S., Baxter, J., Hecht, T., 2004. Competition for attachment of aquaculture candidate probiotic and pathogenic bacteria on fish intestinal mucus. *J. Fish Dis.* 27, 319–325.

Waché, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F.J., Zambonino, J., Gayet, V., Labbé, L., Quentel, C., 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and Rearing conditions on the on set of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, fry. *Aquacult.* 258, 470–478.

Wang, Y.-B., Tian, Z.-Q., Yao, J.-T. & Li, W.-F., 2008. Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, 277, 203–207.

Wierup, M., 2001. The experience of reducing antibiotics used in animal production in the Nordic countries. *International Journal of Antimicrobial Agents* 18, 287–290.

Witte, W., 2000. Selective pressure by antibiotic use in livestock. *International Journal of Antimicrobial Agents* 16, S19–S24.

Ziemer, C.J.; Gibson, G.R. , 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.8, p.473-479.

Zivkovic, R., 1999. Probiotics or microbes against microbes. *Acta Med. Croat.* 53, 23–28.

CAPÍTULO I

LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae* EM DIETAS PARA LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO (*Astyanax altiparanae*)

LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae* EM DIETAS PARA LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO (*Astyanax altiparanae*)

MIRANDA, Luiz Thiago Versiani, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2012. **Levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)**. Orientadora: Ana Lúcia Salaro. Coorientadores: Flávia Maria Lopes Passos e Jener Alexandre Sampaio Zuanon

RESUMO

A *Saccharomyces cerevisiae* se destaca como probiótico por apresentar resultados benéficos à saúde dos peixes. A espécie *Astyanax altiparanae*, é uma espécie sensível ao manejo, o que dificulta o estabelecimento de pacotes tecnológicos para sua produção em cativeiro. Portanto, com este projeto objetivou-se avaliar o efeito probiótico desta levedura sobre o desempenho produtivo, composição química da carcaça, e presença de levedura e bactérias heterotróficas totais no trato gastrointestinal dos peixes. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0 g de levedura/kg de ração) e cinco repetições. Juvenis de lambaris-do-rabo-amarelo com peso médio de $1,89 \pm 0,10$ g foram distribuídos em 30 aquários circulares (65L de água) com aeração constante e temperatura controlada ($26 \pm 1,0^\circ\text{C}$), na densidade de 30 peixes por aquário. Os peixes foram alimentados por 90 dias, com as dietas-teste. Foi observado efeito linear negativo dos níveis de levedura sobre o consumo diário de ração e conversão alimentar. Houve efeito quadrático dos níveis de levedura para a proteína bruta, matéria seca e energia bruta da carcaça dos peixes. Observou-se crescimento da levedura do trato gastrointestinal, nos meios de cultura, com a suplementação das dietas. A levedura atuou como probiótico, melhorando a eficiência de utilização dos nutrientes, a qualidade da carcaça e a conversão alimentar do lambari-do-rabo-amarelo.

Palavras-chave: probiótico, promotor de crescimento, qualidade de carcaça, *Astyanax*, *lambari*, conversão alimentar.

YEAST *Saccharomyces cerevisiae* IN DIETS FOR LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO (*Astyanax altiparanae*)

MIRANDA, Thiago Luiz Versiani, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June 2012. **Yeast *Saccharomyces cerevisiae* in diets for lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)**. Advisor: Ana Lucia Salaro. Co-advisors: Flavia Maria Lopes Passos and Jener Alexandre Sampaio Zuanon

ABSTRACT

The yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, stands out as a probiotic by improve health of fish. The specie *Astyanax altiparanae*, is sensitive to handling, which hinders the establishment of technological packages for its production in captivity. Therefore, this project aimed to evaluate the probiotic effect of the yeast on productive performance, carcass composition, and colonization of the gastrointestinal tract of fish. It was used a completely randomized design with six treatments (0.00, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 and 2.50% of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in the diet) and five replicates. Juveniles of lambari-do-rabo-amarelo with an average weight of 1.89 ± 0.10 g were divided into 30 circular tanks (65L of water) with constant aeration and controlled temperature (26 ± 1 ° C), at a density of 30 fish per aquarium. Fish were fed for 90 days with the test diets. It was observed negative linear effect of the levels of yeast on feed intake and feed conversion ratio. It was observed quadract effect of the levels of yeast for crude protein, dry matter and gross energy of the fish's carcass. It was observed growth of yeast in the gastrointestinal tract, in culture media with supplementation of diets. The yeast acted as a probiotic for fish by improving the quality of the carcasses and the feed conversion ratio.

Key words: probiotic, growth promoter, carcass quality, *Astyanax*, lambari, feed conversion ratio.

INTRODUÇÃO

O aumento no consumo (FAO 2008) associado à estagnação dos recursos pesqueiros (Crepaldi et al.2006; FAO, 2007) impulsionaram a demanda por pescado proveniente da aquicultura, levando à intensificação dos sistemas aquaculturais, o que em muitas ocasiões favorece a incidência de doenças (Crepaldi et al.2006; Z. Qi et al. 2009). Na tentativa de contornar tal situação, os probióticos vêm sendo utilizados em dietas para peixes por atuarem na prevenção de enfermidades (Sakai et al., 2001; Ortuño et al., 2002; Li & Gatlin, 2003, 2004; Li et al., 2004) e na diminuição da carga bacteriana do trato gastrointestinal dos peixes (Balcázar et al. 2006; Taoka et al. 2006a,b; Panigrahi & Azad 2007; Gómez & Balcázar 2008).

Os probióticos também atuam na produção de enzimas digestivas suplementares e auxiliares na digestão e absorção de nutrientes, como dos ácidos graxos de cadeia curta, assim como de algumas vitaminas (Sakata, 1990, Ohashi & Ushida, 2009). Alguns probióticos apresentam a capacidade de atuar na melhoria da digestibilidade da proteína, resultando em melhorias nas respostas de desempenho e composição química de carcaça dos animais (De Schrijver and Ollevier, 2000; Tovar et al., 2002; Lara-Flores et al., 2003; Waché et al., 2006).

Dentre os microorganismos utilizados como probiótico na produção de peixes, a levedura do álcool, *Saccharomyces cerevisiae*, destaca-se pela sua atuação benéfica à saúde dos animais e sua ação não patogênica (Tovar et al., 2002; Lara-Flores et al., 2003). Acrescido a isso, essa levedura apresenta boa disponibilidade e é de fácil incorporação às dietas (Hisano et al., 2004).

O lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) é um peixe de pequeno porte com boa aceitação no mercado como petisco. Também é utilizado como isca para a pesca esportiva (Hayashi et al., 2004) ou matéria prima para produção de farinha de peixe (Porto-Foresti et al., 2001; Porto-Foresti et al, 2010). Entretanto, essa espécie é muito sensível ao manejo, o que dificulta o estabelecimento de um pacote tecnológico para sua produção em cativeiro, sendo necessários estudos para avaliar formas de melhorar sua higidez, e assim permitir a intensificação desta espécie em cativeiro. Portanto, com o presente estudo objetivou-se avaliar o potencial da levedura, *Saccharomyces cerevisiae*, como probiótico para o lambari-do-rabo-amarelo.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e delineamento experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição de Peixes do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 % de levedura nas dietas) e cinco repetições.

Peixes e condição experimental

Juvenis de *Astyanax altiparanae* com peso médio de $1,89 \pm 0,10$ g foram distribuídos em 30 aquários circulares (65L de água), na densidade de 30 peixes por aquário (0,46 peixes/L), sendo cada aquário a unidade experimental. Os aquários foram dotados de aeração constante, filtro biológico e aquecedores ligados a termostatos que mantiveram a temperatura em $26 \pm 1,0$ °C. Em cada aquário foram colocados canos de PVC (03 polegadas) cortados ao meio, e uma estrutura confeccionada com sacos de nylon, com formato semelhante ao sistema radicular da macrófita aquática (*kakaban*) como refúgio dos animais para reduzir eventuais brigas ou disputas por dominância dos peixes. Todos os aquários foram cobertos com tela de nylon branca (2mm) para evitar a fuga dos peixes. O laboratório foi mantido em fotoperíodo de 12 horas.

Os peixes foram alimentados com as dietas-teste até a saciedade, quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 17:00) por um período de 90 dias. Os aquários foram sifonados a cada 15 dias para a retirada de fezes e manutenção das condições físico-químicas da água, as quais foram mantidas em: oxigênio dissolvido = $6,5 \pm 1,0$ mg/L; pH = $6,5 \pm 0,3$; e a amônia entre 0,0 a 0,02 mg/L.

Dietas-teste

Foram formuladas dietas teste isoprotéicas (33,3% proteína bruta) e isoenergéticas (4161,39 kcal de energia bruta/kg) nas quais foi incluído o produto BIOSAF HR contendo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na concentração de 8 bilhões UFC/g, nos seguintes níveis 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 % nas dietas. As dietas teste foram peletizadas, secas em estufa de ventilação forçada, a 30°C, trituradas em moinho manual e peneiradas para obtenção de peletes adequados ao tamanho da boca dos animais. As dietas teste foram colocadas em frascos plásticos, e mantidas a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) segundo recomendação do fabricante do produto BIOSAF HR, para manutenção das células de levedura nas dietas.

Amostras das dietas teste foram coletadas para análise quanto à composição química. Para determinação do teor de proteína bruta, foi utilizado protocolo descrito por Silva & Queiroz (2002), enquanto que para determinação do teor de extrato etéreo, matéria seca e cinzas utilizou-se protocolo da AOAC (2000) (tabela 01).

Amostras das dietas teste foram coletadas e levadas para o Laboratório de Fisiologia de Microrganismos do Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa (UFV) para avaliar a viabilidade da levedura, após as etapas de processamento das dietas. As mesmas foram maceradas em condições assépticas, prosseguindo-se diluição seriada até 10^{-6} e plaqueamento 0,1 mL de cada diluição em duplicata, em meio BDA (Batata Dextrose Ágar), pH 5,6, acrescido de cloranfenicol (50 mg/L) e incubados a 30°C por 24 horas, para isolamento e contagem de leveduras (tabela 02).

Análise de desempenho produtivo e rendimento corporal

Ao final do período experimental, todos os peixes de cada unidade experimental foram contados e pesados, para avaliar os seguintes parâmetros de desempenho produtivo: taxa de sobrevivência, ganho em peso, taxa de crescimento específico, consumo de ração diário e conversão alimentar. Em seguida, os animais foram eutanasiados em solução de benzocaína (Gimbo et al., 2008) conforme recomendado pela resolução bioética 714, e posteriormente eviscerados, descamados e novamente pesados, para avaliação do rendimento de carcaça dos animais. As vísceras foram pesadas separadamente para a obtenção do índice viscerossomático. Foram considerados como vísceras os órgãos: estômago, intestino, cecos pilóricos, gônadas, coração, fígado, vesícula biliar e bexiga natatória.

Composição química da carcaça

Para avaliar a composição química da carcaça dos peixes, foram coletadas aleatoriamente as carcaças de 15 peixes de cada unidade experimental, as quais foram liofilizadas e trituradas em moinho de bola. A proteína bruta da carcaça foi avaliada pelo método semi-micro Kjeldahl, segundo protocolo descrito por Silva & Queiroz (2002) e os teores de matéria seca, extrato etéreo e cinzas totais das carcaças, segundo AOAC (2000). A energia bruta da carcaça foi obtida em bomba calorimétrica, após ter sido feito o desengorduramento prévio das carcaças.

Análises microbiológicas do tubo digestório

Foram coletadas assepticamente amostras do tubo digestório de dois peixes de cada unidade experimental para análises de colonização pela levedura *S. cerevisiae*, e de bactérias totais. As amostras foram coletadas em microtubos de 1,5 mL, contendo solução salina (0,85% p/v NaCl) e em seguida foram conduzidas para o Laboratório de Fisiologia de Microrganismos do Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa (UFV), para o isolamento e contagem de leveduras utilizadas como probiótico, e de bactérias heterotróficas presentes no trato gastrointestinal dos peixes.

Inicialmente as amostras foram maceradas em condições assépticas, prosseguindo-se a diluição seriada até 10^{-6} e plaqueamento de 0,1 mL de cada diluição em duplicata, tanto para isolamento e contagem de leveduras quanto para as bactérias heterotróficas.

O crescimento das leveduras foi conduzido em meio BDA (Batata Dextrose Ágar), pH 5,6, acrescido de cloranfenicol (50 mg/L) e incubados a 30°C por 24 horas. Para o crescimento das bactérias heterotróficas, foi utilizado ágar nutriente, pH 6,8, onde foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após a incubação, foi quantificado o número de colônias por placa tanto das amostras de leveduras quanto de bactérias. A avaliação da densidade populacional na amostra foi realizada através da equação:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{Média do n}^\circ \text{ de colônias por placa} \times \text{FD}}{\text{Volume da alíquota}}$$

Na qual,

UFC/mL: unidades formadoras de colônia por mL da amostra original;

FD: fator de diluição (inverso da diluição, por exemplo, uma diluição a 10^{-6} o fator será de 10^6). Devem ser considerados os valores obtidos entre 25 e 300 colônias.

Análise estatística

A avaliação do efeito dos níveis de levedura da dieta sobre os parâmetros de desempenho produtivo, índices de rendimento corporal e composição química da

carcaça foram realizadas por meio de análise de variância e de regressão ao nível de 10 % de probabilidade. Para escolha do modelo de regressão mais adequado foi considerado a significância dos coeficientes de regressão, a magnitude dos coeficientes de determinação, calculados em função da soma de quadrados de tratamentos, bem como o comportamento das variáveis em estudo.

Para os resultados da análise de colonização do trato intestinal pelas leveduras, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de 10% de significância. Para realização das análises estatísticas do experimento utilizou-se o programa estatístico StatPlus.

RESULTADOS

Análise de desempenho produtivo e índices de rendimento corporal

Houve efeito linear negativo dos níveis de levedura incorporados nas dietas para a conversão alimentar e consumo diário de ração pelos peixes (tabela 03). Não foi observada diferença dos níveis de levedura sobre a taxa de sobrevivência, ganho em peso diário, taxa de crescimento específico, rendimento de carcaça e índice viscerossomático dos lambaris-do-rabo-amarelo alimentados com as dietas teste (tabela 03).

Composição química da carcaça

Os níveis de levedura incorporados nas dietas teste apresentaram efeito quadrático sobre proteína bruta, energia bruta e matéria seca da carcaça dos peixes (tabela 04). Os valores estimados, para maximizar os teores de proteína bruta e matéria seca na carcaça foram 3,14 e 2,91 % de inclusão de levedura, respectivamente. O maior valor de energia bruta da carcaça foi observado com 2,5% de inclusão de levedura na dieta.

Análises microbiológicas do trato gastrointestinal

Observou-se crescimento em meio de cultura da levedura presente no trato gastrointestinal dos peixes, com exceção do grupo controle (0% de levedura na dieta).

Não houve influência do nível de inclusão de levedura sobre o número de UFCs de bactérias heterotróficas totais do trato intestinal dos animais (tabela 05).

DISCUSSÃO

A redução do consumo e a melhoria na conversão alimentar dos peixes alimentados com as dietas suplementadas com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* pode estar relacionada a maior disponibilidade de nutrientes em função da produção de enzimas digestivas e/ou aumento da área de superfície intestinal dos peixes. A melhor eficiência de utilização, pelos peixes, das dietas suplementadas com levedura provavelmente permitiu aos animais suprirem com maior rapidez a demanda energética, levando à saciedade e conseqüentemente a menor ingestão do alimento. A diminuição no consumo dessas dietas pelos peixes não ocasionou prejuízo nos demais parâmetros de desempenho produtivo avaliados, indicando que esses peixes, mesmo ingerindo menor quantidade de alimento tiveram suas exigências nutricionais atendidas.

A ausência de efeito da levedura sobre a taxa de sobrevivência, ganho de peso, rendimento de carcaça e índice viscerossomático, pode estar relacionada ao manejo e as condições ideais, as quais esses animais foram submetidos. Para que a levedura exerça seu papel de probiótico é necessário que os animais sejam submetidos a desafios de natureza sanitária, de manejo ou de baixa qualidade da água de criação. Assim, é provável que, em animais submetidos a condições ótimas de criação, boa nutrição e sanidade, não seja observado os efeitos benéficos proporcionados pela levedura (Lima et al., 2003), uma vez que, em tais situações, a exposição dos animais à microrganismos patogênicos é menor (Loddi et al., 2000; Zuanon et al., 1998). Neste aspecto, o efeito probiótico da levedura sob a ação de patógenos comuns na aquicultura é o objetivo de vários estudos (Meurer et al. 2004; Meurer et al., 2007; Abdel-Tawwab et al., 2008).

Alevinos de tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas suplementadas com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram melhorias no crescimento, eficiência alimentar e sobrevivência dos animais, quando submetidos ao desafio com a bactéria *Aeromonas hydrophila* (Abdel-Tawwab et al., 2008). Entretanto, resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo, foram observados por Meurer et al.(2007) em alevinos de tilapia-do-nilo, mesmo quando esses animais foram submetidos a desafio sanitário. A utilização dessa levedura durante o período de

reversão sexual da tilápia-do-nylo não alterou os parâmetros de desempenho produtivo dos animais (Meurer et al., 2008).

O efeito positivo da suplementação de levedura sobre os teores de matéria seca, proteína bruta e energia bruta da carcaça de lambaris-do-rabo-amarelo pode estar relacionados à liberação de enzimas digestivas que auxiliam na digestão, aumentando assim a disponibilidade dos nutrientes da dieta como os ácidos graxos e a proteína (Olafsen, 2001; Vaughan et al., 2002; Tovar et al., 2002; Lara-Flores et al., 2003; Vine, 2004; Waché et al., 2006; Gatesoupe, 2008; Ringø, 2008; Tinh et al., 2008). A disponibilização de ácidos graxos, principalmente os de cadeia curta, como o butirato, proveniente da digestão de carboidratos fibrosos pelo probiótico, pode estimular a liberação do GLP2, peptídeo similar ao glucagon. O GLP2 pode por sua vez, aumentar o tempo de passagem do alimento no trato gastrointestinal, o número de transportadores, a quantidades de enterócitos e a espessura da mucosa intestinal. Tais situações favorecem a maior absorção de nutrientes pelos animais, alterando assim a quantidade de nutrientes a serem metabolizados e, conseqüente modificação na composição química da carcaça.

O crescimento em meio de cultura da levedura proveniente do intestino dos animais indica que a mesma sobreviveu às condições do trato gastrointestinal e, portanto, pode-se atribuir a redução no consumo, a maior eficiência de utilização dos nutrientes e as alterações na composição química da carcaça ao efeito probiótico da levedura. A ausência de efeito da inclusão de levedura nas dietas sobre as bactérias heterotróficas totais indica que a mesma não prejudicou o desenvolvimento da microbiota residente. A microbiota gastrointestinal dos animais aquáticos pode mudar rapidamente em função do constante fluxo de microrganismos provenientes do ambiente e alimento (Abidi, 2003). Desta forma, a levedura atuou de forma benéfica na composição da flora intestinal, assegurando uma composição saudável aos animais.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Balcázar, J.L.; De Blas, I.; Rui'z-Zarzuela, I.; Cunningham, D.; Vendrell, D. & Mu'zquiz, J.L., 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Vet. Microbiol.*, 114, 173–186.

De Schrijver R, Ollevier F., 2000. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of *Vibrio proteolyticus*. *Aquaculture*, 186: 107-116.

Gatesoupe, F.J., 2008. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 14, 107–114.

Gómez, G.D., Balcázar, J.L., 2008. A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish *Fems. Immunol. Med. Microbiol.* 52, 145–154.

Hayashi, C., Meurer, F., Boscolo, W.R., Lacerda, C.H.F. & Kavata, L.C.B., 2004. Frequência de Arraçamento para Alevinos de Lambari do Rabo- Amarelo (*Astyanax bimaculatus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33, 21-26.

Lara-Flores, M., Olvera-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, 193–201.

Li, P.; Gatlin, D.M., 2003. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture*, v.219, p.681-692.

Li, P.; Gatlin, D.M., 2004. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*, v.231, p.445-456.

Li, P.; Lewis, D.H.; Gatlin, D.M., 2004. Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Fish and Shellfish Immunology*, v.16, p.561-569.

Olafsen, J.A., 2001. Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquacult.* 200, 223–247.

Ortuño, J.; Cuesta, A.; Rodríguez, A.; Esteban, M.A.; Meseguer, J. , 2002. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Spaurus auratus L.*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.85, p.41-50.

Panigrahi, A. & Azad, I.S., 2007. Microbial intervention for better fish health in aquaculture: the Indian scenario. *Fish Physiol. Biochem.*, 33, 429–440.

Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R.B., Senhorini, J.A. & Foresti, F., 2010. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. (Baldisserotto, B., Gomes, L.C. ed), 2 ed, pp 101-115. UFSM, Santa Maria, RS, BRASIL.

Porto-Foresti, F., Oliveira, C., Foresti, F. & Almeida, R.B.C., 2001. Cultivo do lambari: uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. *Panorama da Aqüicultura*, 67, 15-19.

Ringø, E., 2008. The ability of carnobacteria isolated from fish intestine to inhibit growth of fish pathogenic bacteria: a screening study. *Aquacult. Res.* 39, 171–180.

Roberfroid, M.B., 2002. Functional food concept and its application to prebiotics. *Dig. Liver Dis.*, Rome, v.34, suppl.2, p.S105-S110.

Sakai, M.; Taniguchi, K.; Mamoto, K.; Ogawa, H.; Tabata, M., 2001. Immunoestimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio L.* *Journal of Fish Disease*, v.24, p.433-438.

Sanders, M. E., 1998. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. *Inst. Dairy J.* , Amsterdam, v. 8, p. 341-347.

Sugita, H., Shibuya, K., Shimooka, H., Deguchi, Y., 1996. Antibacterial abilities of intestinal bacteria in freshwater cultured fish. *Aquaculture* 145, 195–203.

Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.-Y., Jeon, M.-J., Bai, S.C., Lee, W.-J., Yuge, K. & Koshio, S., 2006a. Growth, stress tolerance and nonspecific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculating system. *Fish. Sci.*, 72, 310–321.

Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.-Y., Kim, S.-M., Park, S.-I., Yoshikawa, T. & Sakata, T., 2006b. Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish. Sci.*, 72, 755–766.

Tinh, N.T.N., Dierckens, K., Sorgeloos, P., Bossier, P., 2008. A review of the functionality of probiotics in the larviculture food chain. *Mar. Biotechnol.* 10, 1–12.

Tovar, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F.J., Vázquez-Juárez, R., Lésel, R., 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture* 204, 113–123.

Vaughan, E.E., de Vries, M.C., Zoetendal, E.G., Ben-Amor, K., Akkermans, A.D.L., De Vos, W.M., 2002. The intestinal LABs. *Antonie van Leeuwenhoek* 82, 341–352.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 655–671.

Vine, N.G., Leukes, W.D., Kaiser, H., Daya, S., Baxter, J., Hecht, T., 2004. Competition for attachment of aquaculture candidate probiotic and pathogenic bacteria on fish intestinal mucus. *J. Fish Dis.* 27, 319–325.

Waché, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F.J., Zambonino, J., Gayet, V., Labbé, L., Quentel, C., 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and Rearing conditions on the on set of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, fry. *Aquacult.* 258, 470–478.

Wang, Y.-B., Tian, Z.-Q., Yao, J.-T. & Li, W.-F., 2008. Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, 277, 203–207.

Tabela 01. Composição química das rações

Variáveis	Níveis de inclusão de levedura na dieta					
	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Umidade	7,73	7,48	7,44	6,97	7,32	6,82
Extrato Etéreo	8,45	9,22	8,83	9,32	8,94	9,30
Proteína	32,29	31,40	32,05	31,14	31,71	32,80
Cinzas	8,85	8,80	7,92	8,69	8,55	8,52
Fibra Bruta	4,22	3,76	3,39	3,98	3,40	3,35

Tabela 02. Unidades formadoras de colônias (UFCs) por Kg de ração.

Níveis %	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
UFCs x 10 ⁹ / Kg	0,00	39,65	80,39	123,43	158,17	201,04

Tabela 03. Resultados de desempenho produtivo e índices de rendimento corporais.

VARIÁVEIS	Níveis de inclusão de levedura nas dietas teste						Coef var.	P valor	
	0	0,5	1	1,5	2	2,5		Linear	Quad
C.R.D. ¹	0,07	0,07	0,07	0,06	0,07	0,06	10,08	0,0734	0,2071
G.P.D.	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	10,13	0,7136	0,9224
C.A. ²	1,9042	1,7786	1,8709	1,6882	1,6440	1,6787	10,02	0,0128*	0,0448**
T.C.E.	1,1228	1,1329	1,1042	1,1584	1,2034	1,1192	14,57	0,6768	0,8853
R.C.	74,54	75,59	75,23	74,42	74,01	75,6	2,97	0,9703	0,9611
I.V.S.	15,64	16,13	15,77	16,44	18,83	15,57	15,52	0,3930	0,5387

C.R.D. = Consumo de ração diário; G.P.D. = Ganho de peso diário; C.A.D = Conversão alimentar; R.C. = Rendimento de carcaça; I.V.S. = Índice viscerossomático; T.C.E. = Taxa de crescimento específico.

* significativo a 10% para regressão linear

* significativo a 10% para regressão quadrática

$$1 = y = -0,0019x + 0,0703 \quad R^2 = 0,5341$$

$$2 = y = -0,0979x + 1,8832 \quad R^2 = 0,7155$$

Tabela 04. Composição química de carcaça.

VARIÁVEIS	0	0,5	1	1,5	2	2,5	Coef var.	Pvalor Linear	Pvalor Quad
Matéria Seca ¹	29,41	30,08	30,61	30,93	30,23	31,37	4,16	0,0293*	0,0860**
Extrato Etereo	8,93	9,86	8,9	10,06	10,35	9,56	44,72	0,7048	0,9107
Proteína Bruta ²	66,91	66,55	67,93	68,53	69,01	68,66	2,60	0,0130*	0,0427**
Cinzas	16,84	16,6	17,01	16,11	16,54	16,84	6,17	0,7719	0,7608
Fibra Bruta	2,78	3,15	2,98	2,79	3,33	2,57	62,01	0,9190	0,9202
Energia Bruta ³	3493,15	3509,35	3504,01	3478,09	3523,22	3635,06	3,09	0,0833*	0,0698**

* significativo a 10% para regressão linear

** significativo a 10% para regressão quadrática

$$^1 y = -0,1822x^2 + 1,0595x + 29,533 \quad R^2 = 0,7068;$$

$$^2 y = -0,2533x^2 + 1,5907x + 66,525 \quad R^2 = 0,8294;$$

$$^3 y = 48,574x^2 - 79,990x + 3512,5 \quad R^2 = 0,8133.$$

Tabela 05. Colonização de bactérias heterotróficas totais do intestino.

VARIÁVEIS	0	0,5	1	1,5	2	2,5	Pvalor Linear	Pvalor Quad
HET ufc/ml x 10³	126400	175333,3	560000	88333,3	367000	128300	0,812	0,581