



**Editais Icesp Promove: 02/2016**  
**Bolsa de Iniciação Científica**

**PROJETO:**

**Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

**CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**Profª Drª Tatiana Maslowa Pegado de Azevedo**

**Estudante: Luis Arthur Rodrigues de Andrade**

**BRASÍLIA - DF**

**2016**

**Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

	<b>SU</b>
Orientadora	3
Bolsista	3
	<b>MÁ</b>
	<b>RIO</b>
Atividades da Orientadora	3
Atividades do Bolsista	3
1.1 OBJETIVO GERAL	4
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
2. JUSTIFICATIVA	5
3. INTRODUÇÃO	6
4. REFERENCIAL TEÓRICO	7
5. METODOLOGIA	11
6. RESULTADOS ESPERADOS	16
7. REFERÊNCIAS	17
8. ORÇAMENTO	19

**Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

**Atividades do Orientador**

- Acompanhar o andamento do Projeto;
- Elaborar os Relatórios Técnicos Científicos (mensais, semestrais e final);
- Publicar Material Científico;
- Participar do Seminário de Iniciação Científica;
- Selecionar os bolsistas;
- Cancelar o bolsista que não cumprir as regras do Edital ICESP Promove/Promove: 02/2016, bem como não houver entrega dos relatórios.

**Atividades do Bolsista**

- Executar a Pesquisa Científica;
- Elaborar os Relatórios Técnicos Científicos (mensais, semestrais e final);
- Publicar Material Científico;
- Participar do Seminário de Iniciação Científica;

## **Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

### **1. OBJETIVOS**

#### **1.1 GERAL:**

- Avaliar a interferência direta dos prebióticos e probióticos, na saúde dos alevinos de tilápias por meio da avaliação dos parâmetros hematológicos.

#### **1.2 ESPECÍFICOS**

- Identificar as eventuais interferências do manejo e de qualidade da água sobre a saúde dos alevinos de tilápias;
- Avaliar o quadro sanguíneo dos alevinos de tilápias, por meio da contagem média de eritrócitos, o volume globular, a proteína plasmática total, índices hematimétricos (VCM e CHCM);
- Avaliar o quadro sanguíneo dos alevinos de tilápias, por meio das células de defesa orgânica: leucócitos e trombócitos.

# **Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

## **2. JUSTIFICATIVA**

A atividade aquícola ornamental e de consumo tem o interesse em racionalizar e aperfeiçoar a produção de organismos aquáticos com valor comercial. Um bom embasamento biológico a respeito das espécies aquáticas, assim como dos ambientes onde estas se desenvolvem, pode garantir o sucesso dos empreendimentos. Como as produções, de organismos aquáticos, tem sido realizada com altas densidades de estocagem, visando a máxima produção em pouco tempo, com frequentes problemas relativos ao manejo intenso, alimentação incorreta, técnicas reprodutivas inadequadas e a falta de conhecimentos de sanidade, existe a necessidade de informações acuradas sobre aspectos de prevenção e controle de situações de estresse, a fim de assegurar a saúde e o bem-estar dos animais. A pesquisa científica visa mostrar aos bolsistas e futuros médicos veterinários, a importância do conhecimento prático, proporcionando uma produção contínua de qualidade e futuras tomadas de decisões do setor aquícola.

# **Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

## **3. INTRODUÇÃO**

A atividade aquícola seja de consumo ou ornamental vem se despontando como um agronegócio de crescimento acelerado. Porém, os intensos sistemas de cultivo, em altas densidades, com pouco conhecimento zootécnico e manejo inadequado, tem trazido um descontrole sanitário para as produções de organismos aquáticos, aumentando a suscetibilidade dos organismos aquáticos e causando prejuízos na produção do pescado.

O Brasil apresenta características favoráveis ao crescimento da atividade aquícola com imenso potencial de expansão, como extenso território hidrográfico, clima favorável e diversidade de espécies.

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie de peixe mais produzida em sistema intensivo, em função do rápido crescimento, boa conversão alimentar e carne com características sensoriais desejáveis, sendo possível a comercialização de filés sem espinhos intramusculares, o que facilita sua comercialização nos mercados interno e externo (SCHWARZ et al, 2010).

Com a intensificação dos cultivos, tem se buscado alternativas para melhor resistência dos peixes a situações adversas dos cultivos, bem como aumento da produção e preservação ambiental. Dessa forma tem-se preconizado o uso de promotores de crescimento alternativos na nutrição animal, como os prébióticos e probióticos.

Nos últimos anos, tem sido dada grande importância aos estudos hematológicos, devido a sua influência na compreensão do estado fisiológico, nutricional e sanitário dos organismos aquáticos de produção. As respostas ao estresse podem ser avaliadas observando os parâmetros hematológicos que podem colaborar com o diagnóstico de condições adversas e na compreensão da relação entre as características sanguíneas, a saúde dos peixes e a sua associação com o meio ambiente.

O objetivo da pesquisa é avaliar os parâmetros hematológicos em alevinos de tilápias suplementados com prebióticos e probióticos.

## **Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

### **4. REFERENCIAL TEÓRICO**

Atualmente, nos cultivos, os organismos aquáticos estão em constante interação com o meio ambiente, sendo afetados pelas mudanças causadas por diferentes agentes físicos, químicos e biológicos. São constantemente expostos a situações de estresse, as quais, muitas vezes, determinam modificações temporárias na homeostase, induzindo os animais aquáticos a alterarem suas respostas fisiológicas na tentativa de se adaptar a novas situações, aumentando o desequilíbrio orgânico (FALCON, *et. al.*, 2008).

A exploração econômica de qualquer organismo aquático requer conhecimentos básicos dos principais fatores que direta ou indiretamente estão atrelados ao meio ambiente, ao manejo e à prevenção das doenças (MORAES; MARTINS, 2004). As enfermidades têm sido registradas, especialmente após situações de estresse provocadas pelas altas densidades populacionais (CAVICHIOLO *et al.*, 2002).

A tilápias são reconhecidamente espécies de peixes que melhor se adaptam a diferentes condições de qualidade da água. São particularmente bastante tolerantes ao baixo oxigênio dissolvido, convivem com uma faixa bastante ampla de acidez e alcalinidade na água, crescem e até mesmo se reproduzem em águas salobras e salgadas, e toleram altas concentrações de amônia tóxica comparada à maioria dos peixes cultivados (GRAEFF; PRUNER, 2006).

Os prebióticos são substâncias não digestíveis que estimulam o crescimento e a atividade de bactérias benéficas no trato gastrointestinal, melhorando a saúde do hospedeiro e atuando no sistema imune, como os oligossacarídeos. O mananoligossacarídeo é um prebiótico, derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, com características de melhorar a saúde e o desempenho dos de peixes, considerando a sua ação no sistema imunológico e na prevenção da colonização de bactérias patogênicas no trato digestório (SCHWARZ *et al.*, 2010).

Por outro lado, os probióticos são microorganismos vivos que atuam como suplemento alimentar dos peixes de modo a favorecê-lo em seu estado de saúde. As espécies

de bactérias mais comuns na composição de probióticos no uso na aquicultura são: *Lactobacillus bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium spp*, *Bacillus subtilis*. O uso de probióticos em rações tem mostrado resultados quando os peixes são submetidos a algum tipo de estresse (FERREIRA et al, 2012).

O estudo e compreensão dos parâmetros hematológicos assumem importância como meio auxiliar de diagnóstico de modo que alterações sanguíneas refletem anormalidades fisiológicas nos animais (GRAEF; PRUNER, 2006). No Brasil, as características hematológicas foram avaliadas em *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758 em condições laboratoriais (UEDA et al., 1997; MARTINS et al., 2004), de criação extensiva (TAVARES-DIAS e FAUSTINO, 1998) e de pesque-pague (TAVARES-DIAS et al., 2000; TAVARES-DIAS et al., 2002a).



## **Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

### **5. METODOLOGIA**

A pesquisa será encaminhada ao Comitê de Ética na Utilização de Animais - CEUA, e as pesquisas, somente serão iniciadas após Parecer do Comitê. Vale ressaltar que, as pesquisas realizadas no Laboratório de Organismos Aquáticos - LOA/ICESP serão fundamentadas na defesa do bem-estar dos organismos aquáticos em sua integridade, dignidade e vulnerabilidade, proporcionando o desenvolvimento do ensino com padrão ético, prático e acadêmico.

#### 3.1 Local da Pesquisa

Será realizada no Laboratório de Organismos Aquáticos - LOA/ICESP pelo bolsista previamente selecionado. Os alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) serão adquiridos de produtor registrado, da região de Goiás.

#### 3.2 Experimento

Será montado em 03 aquários de 30L onde será montado um sistema de aeração composto com pedras porosas ligadas por mangueiras de silicone a compressores. A renovação de água será feita com troca parcial numa concentração de 20%, a cada dois dias de experimento. Os tratamentos com prebiótico, probiótico e controle serão sorteados em delineamento inteiramente casualizados.

- Tratamento 1: prebióticos e ração
- Tratamento 2: probiótico e ração
- Tratamento 3: apenas ração (controle)

#### 3.3 Parâmetros de Qualidade de Água

Serão medidos temperatura, oxigênio dissolvido, pH e amônia, com kits colorimétricos diariamente.

### 3.4 Alimentação

Os alevinos receberão ração farelada com 45% de PB, 01 vez ao dia, numa concentração de 3% do peso vivo. Durante o experimento serão realizadas 03 biometrias: dia zero, dia 15 e dia 30.

### 3.5 Análises Sanguíneas

Ao fim do período experimental (30 dias) serão coletadas as amostras sanguíneas (1mL) com seringas contendo EDTA (10%), por punção do vaso caudal. Serão determinados:

- Contagem de eritrócitos na câmara de Neubauer,
- Taxa de hemoglobina (Collier, 1944),
- Volume Globular VG pela técnica do microhematócrito (Goldenfarb et al., 1971),
- Volume corpuscular médio (VCM)
- Concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) (Wintrobe, 1934), de acordo com a metodologia usual previamente descrita (Tavares-dias, *et al.*, 2000).

Para a contagem diferencial de células sanguíneas de defesa orgânica, leucócitos e trombócitos, serão preparadas extensões sanguíneas confeccionadas e coradas pancromicamente com May-Grunwald-Giemsa-Wright e se utilizará o método sugerido por Tavares-dias *et al.*, (1999 e 2000). Em 10 campos homogêneos, de cada extensão sanguínea, serão quantificados o número de eritrócitos, anotando-se o número de leucócitos e de trombócitos e de posse desses resultados e da contagem de eritrócitos (uL de sangue), em hemocítômetro, de cada peixe, serão realizados os seguintes cálculos:

#### Leucócitos (uL):

(Número de leucócitos x contagem de eritrócitos/uL)

---

Número de eritrócitos na extensão sanguínea

Trombócitos (uL):

(Número de trombócitos x contagem de eritrócitos/uL)

---

Número de eritrócitos na extensão sanguínea

### 3.6 Análises Estatísticas

Os resultados da contagem média de eritrócitos, volume globular, proteína plasmática total serão analisados estatisticamente pelo teste de variância. Os resultados para leucócitos e trombócitos serão analisados por regressão linear e teste *t* a 5% de probabilidade (TAVARES-DIAS *et al.*, 2002).

**Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

**6. RESULTADOS ESPERADOS**

- Espera-se encontrar correlação entre os parâmetros de qualidade e o manejo dos diferentes tratamentos.
- Espera-se encontrar diferenças significativas entre os parâmetros sanguíneos dos alevinos que forem suplementados com o prebióticos, probióticos comparado ao controle.
- Espera-se que os alevinos suplementados com o prebióticos e probióticos tenham melhores índices zootécnicos.

## **Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

### **7. REFERÊNCIAS**

- CAVICHIOLO, F.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; MOREIRA, H. L. M.; LOURES, B. R. R.; MAEHANA, K. POVH, J. A.; LEONARDO, J. M. L. O. Efeito da suplementação de vitamina C e vitamina E na dieta, sobre a ocorrência de ectoparasitos, desempenho e sobrevivência em larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. *Acta Scientiarum*, Maringá, v.24, n.4, p. 943-948, 2002.
- FALCON, D. R., BARROS, M. M., SOLARTE, L. E. P. N.; GUIMARÃES, I. G. Leucograma da tilápia do Nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis de Vitamina C e Lipídios Submetidas a Estresse por Baixas Temperatura. *Ciência Animal Brasileira*, v.9, n.3, p.543-551, jul/set., 2008.
- FERREIRA, A. H. C.; ARARIPE, N. M. B. A.; MONTEIRO, C. A. B.; LOPES, J. B. L.; ARARIPE, H. G. A. Uso de probióticos na aquicultura – Revisão. Artigo 176 - Volume 9 - Número 05 – p. 1965 – 1980 - Setembro/Outubro 2012.
- GRAEFF, A.; PRUNER, E. N. Variáveis que podem interferir na sobrevivência e desenvolvimento da Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) na região fria do Estado de Santa Catarina. Comunicação Científica - CIVA 2006 (<http://www.civa2006.org>), 70-79. EPAGRI-Estação Experimental de Caçador, SC/Brasil.
- KILDEA, J. Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and Aqui-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.232, p.265-277, 2004.
- MARTINS, C. V. B.; POOTS, D. O.; MARTINS, R. S.; HERMES, C. A.; OLIVEIRA, L. G.; VAZ, S. K.; MINOZZO, M. G.; CUNHA, M. C.; ZACARKIN, C. E. Avaliação da Piscicultura na Região Oeste do Estado do Paraná. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 27 (1): 77-84, 2001.
- MARTINS, M.L.; PILARSKY, F.; ONAKA, E.M.; NOMURA, D.T.; FENERICK Jr., J.; RIBEIRO, K.; MYIAZAKI, D.M.Y.; CASTRO, M.P.; MALHEIROS, E.B. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) submetida aos estímulos único e consecutivo de estresse de captura. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 30(1): 71-80, 2004.
- MORAES, F. R.; MARTINS, M. L. 2004 Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATE, E. C.; FRACALOSI, D. M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva**. São paulo: Edit. Tecart. P.343 – 386.
- SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; MICHELATO, M.; GUALDEZI, M. C. Mananoligossacarídeo em dietas para juvenis de tilápias do Nilo. *Acta Scientiarum*. Animal Sciences Maringá, v. 32, n. 2, p. 197-203, 2010.
- TAVARES-DIAS, M. e FAUSTINO, C.D. Parâmetros hematológicos da tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) em cultivo extensivo. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, 14(3): 254-263, 1998.
- TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S.H.C.; MARTINS, M.L.; SILVA, E.D.; MORAES, F.R.; PERECIN, D. Hematologia de teleósteos brasileiros com infecção parasitária. I. Variáveis do *Leporinus macrocephalus* Garavelo e Britski, 1988 (Anostomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characidae). *Acta Scientiarum*, Maringá, 21(2): 337-342, 1999.
- TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S. H. C.; SILVA, E. D.; MARTINS, M. L.; MORAES, F. R. Características hematológicas de *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) cultivada intensivamente em “pesque-pague” do município de Franca, São Paulo, Brasil. *Ars, Veterinária*, Jaboticabal, v. 16, p. 76-82, 2000.

- TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L.; MORAES, F. R. Fauna parasitária de peixes oriundos de “pesque-pague” do município de Franca, São Paulo, Brasil, I Protozoários. **Revta bras. Zool.** 18 (Supl. 1): 67-79, 2001.
- TAVARES-DIAS, M.; MELO, J. F. B.; MORAES, G.; MORAES, F. R. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. variáveis do jundiá *Rhandia quelen* (Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n.4, p.693-698, 2002.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R.; MARTINS, M.L.; SANTANA, A.E. Haematological changes in *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) with gill ichthyophthiriasis and saprolegniosis. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, 28(1): 1-9, 2002a.
- TAVARES-DIAS, M. Características bioquímicas de *Brycon cephalus* e *Brycon orbignyanus*, teleósteos dulciaquícolas brasileiros de importância econômica. Comunicação científica. CIVA, <http://www.civa2004.org>, 282-285. Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil, 2004.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: Villimpress. 144p, 2004.
- TAVARES-DIAS, M.; BOZZO, F. R.; SANDRIN, E. F. S.; CAMPOS-FILHO, E.; MORAES, F. R. Células sanguíneas, eletrólitos séricos, relação hepato e esplenossomática de carpa comum, *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) na primeira maturação gonadal. **Acta Scientiarum**. Biological Sciences. Maringá, v.26, no. 1, p.73-80, 2004.

**Pesquisa Científica: Avaliação dos parâmetros hematológicos de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementados com prebióticos e probióticos.**

**8. ORÇAMENTO**

Edital 01/2016 - Montagem do Laboratório de Organismos Aquáticos - LOA

Edital 02/2016 - Iniciação Científica

PRODUTOS	Quantidade	Valor Unitário	Valor Total
<b>Material Permanente</b>			
Aquários de 30 Litros	03	54,00	162,00
Balança Digital	01	ICESP	ICESP
Bombas submersas	03	80,00	240,00
Câmara de Neubauer	1	315,00	315,00
Conectores	15	1,0	15,00
Compressores	03	50,00	150,00
Estéreo microscópico - LUPA	1	ICESP	ICESP
Microcentrífuga para hematócrito	1	ICESP	ICESP
Microscópio	1	ICESP	ICESP
Puçá médio Nº 4	03	8,00	24,00
Termômetros pequenos submersos	03	10,00	30,00
Termostatos pequenos	03	30,00	90,00
<b>Total do material permanente</b>			<b>1.026,00</b>
<b>Material de Consumo</b>			
Agulhas 25X7	100UN	0,40	40,00
Álcool absoluto	5 L	12,00	60,00
Capilar para microhematócrito	200UN	28,00	28,00

EDTA ou Heparina	10ml	10,00	10,00
Kit amônia	01	35,0	35,00
Kit anti cloro	01	20,0	20,00
Kit oxigênio dissolvido	01	40,0	40,00
Kit pH	01	12,0	12,00
Kit Corante Panótico	1	50,00	50,00
Lâminas para esfregaço cx com 50	1CX	5,00	5,00
Mangueiras metros	10 m	3,0 m	30,00
Luvas de procedimento P CX	1CX	25,00	25,00
Paquímetros plástico	1	6,00	6,00
Pedras porosas	06	2,5	
Ração farelada - 45% PB	3kg	20,00	60,00
Seringas 3mL	50UN	32,00	32,00
Seringas insulina	50UN	0,20	10,00
<b>Peixes</b>			
Alevinos de tilápia	25 UN	0,25	6,25
<b>Total do material de consumo</b>			<b>469,25</b>
<b>Total</b>			<b>1.495,25</b>