

LEVEDURA E ZINCO COMO PRÓ-NUTRIENTES EM RAÇÕES PARA TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*): ASPECTOS HEMATOLÓGICOS*

Hamilton HISANO ¹; Margarida Maria BARROS ²; Luiz Edivaldo PEZZATO ²

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito da suplementação de levedura de cana-de-açúcar *spray dried* (desidratada) e do mineral zinco (óxido de zinco), como pró-nutrientes em rações para tilápia-do-Nilo, sobre alguns parâmetros hematológicos. Foram distribuídos 200 alevinos de tilápia, com peso médio inicial de $1,12 \pm 0,05$ g, em 40 aquários (5 peixes/aquário) com sistema fechado de recirculação contínua de água e temperatura controlada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3 (níveis de levedura e de zinco) com um tratamento adicional (controle), totalizando dez tratamentos e quatro repetições. As rações experimentais, isoprotéicas (30,0% de PD) e isoenergéticas (3200 kcal ED/kg de ração), foram suplementadas com três níveis de levedura (0,5; 1,0 e 2,0%) e três níveis de zinco (150, 300 e 600 mg/kg de ração). O tratamento adicional (controle) não foi suplementado com estes pró-nutrientes. Foram analisados o número de eritrócitos, o hematócrito, a proteína plasmática total, o volume globular médio e possíveis alterações macroscópicas no sistema digestório. Após 90 dias, os resultados do hematócrito e do volume globular médio demonstraram interação entre os níveis de levedura e zinco. Conclui-se que os níveis de levedura e de zinco não causam alterações prejudiciais dos parâmetros hematológicos, e que existe a possibilidade de se utilizarem estes dois pró-nutrientes em combinação, para compor rações para tilápia-do-Nilo.

Palavras-chave: *Saccharomyces* sp.; levedura; zinco; pró-nutriente; aditivos em rações

YEAST AND ZINC AS PRO-NUTRIENTS IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) DIETS: HEMATOLOGICAL ASPECTS

ABSTRACT

This research evaluated the effect of supplementation of spray dried sugar cane yeast and zinc (zinc oxide), as pro-nutrients in Nile tilapia diets, on some hematological parameters. Two hundred tilapia fingerlings with initial average weight (1.12 ± 0.05 g) were distributed in 40 aquaria (5 fish/aquarium), in recirculating water system with controlled temperature. The experimental design was factorial 3x3 design (levels of yeast and zinc) plus an additional treatment (control), totaling 10 treatments with four replicates in completely randomized blocks. The experimental diets, isoproteic (30.0% DP) and isoenergetic (3200 kcal ED/kg diet) were supplemented with three yeast levels (0.5, 1.0 and 2.0%) and three zinc levels (150, 300 and 600 mg/kg diet). An additional diet with no pro-nutrient was used (control). The number of erythrocytes, hematocrit, mean corpuscular volume, total plasmatic protein and macroscopic alterations on digestive tract were analyzed. After 90 days, results of hematocrit and mean corpuscular volume showed interaction between levels of yeast and zinc. It was concluded that the proposed levels of yeast and zinc did not provide severe alterations on the evaluated hematological parameters and that it is possible to use them in combination as pro-nutrients in Nile tilapia diets.

Key words: *Saccharomyces* sp.; yeast; zinc; pro-nutrient; feed additive

Artigo Científico: Recebido em 23/08/2005 - Aprovado em 23/11/2006

¹ Pesquisador - Embrapa Agropecuária Oeste

Endereço/Address: Embrapa Agropecuária Oeste, Caixa Postal: 661, Dourados-Caarapó, Mato Grosso do Sul
CEP: 79804-970 - e-mail: lhisano@cpao.embrapa.br - e-mail: epezzato@fca.unesp.br.

² Universidade Estadual Paulista (Unesp), FMVZ - DMNA, Câmpus de Botucatu, Caixa Postal: 560 - Botucatu - São Paulo

* Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor (FAPESP - 00/02326-0)

INTRODUÇÃO

Diversos microingredientes alimentares estão sendo avaliados para substituição de antibióticos e quimioterápicos, em razão dos problemas gerados pelo uso inadequado e indiscriminado destes. Estes compostos, quando utilizados em dosagens subterapêuticas, podem provocar resistência cruzada de bactérias patogênicas importantes para a saúde humana, além de acumular resíduos nos animais, entre eles o homem, e no meio ambiente. Dentre alguns microingredientes, os pró-nutrientes naturais têm sido indicados, com o objetivo de melhorar as características nutritivas da ração e minimizar a utilização de compostos sintéticos, promovendo aumento da eficácia de desempenho e minimizando os riscos para a saúde dos animais e para o meio ambiente.

A levedura, quando utilizada para essa finalidade, promove melhor desempenho zootécnico e melhores respostas imunológicas em peixes (ORTUÑO *et al.*, 2002; LI e GATLIN, 2003; HISANO *et al.*, 2004). No entanto, a utilização de altos níveis de levedura pode provocar alterações metabólicas, em razão do seu alto conteúdo de nitrogênio não protéico. Segundo RUMSEY *et al.* (1991), as leveduras contêm cerca de 19,0% de nitrogênio não protéico na forma de ácido nucléico, o qual pode ocasionar alterações na atividade de enzimas hepáticas, acúmulo de ácido úrico e de uréia no sangue, anemia microcítica e anomalia e fragilidade eritrocitárias (SÁNCHEZ-MUNIZ *et al.*, 1979, 1982; TACON e COOKE, 1980).

O mineral zinco participa como componente ativo ou co-fator em importantes sistemas enzimáticos, com papel vital no metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos. É ativo na síntese e metabolismo de ácidos nucléicos (RNA) e proteínas, é componente essencial em mais de 80 metaloenzimas e desempenha papel fundamental na ação de hormônios, tais como insulina, glucagon, corticotróficos, hormônio foliculo estimulante e hormônio luteinizante (TACON, 1990).

Estudos com suínos sugerem que o zinco atua eficientemente no controle de algumas bactérias patogênicas e que melhora o desempenho do animal quando utilizado em altas dosagens (HAHN e BAKER, 1993). No entanto, altas concentrações de zinco em rações para peixes podem provocar efeito quelante com alguns minerais, tais como o ferro e o cobre, que participam diretamente da formação de eritrócitos, determinando assim deficiência na eritropoiese (KNOX *et al.*, 1982, 1984).

Este estudo teve como objetivo avaliar a suplementação de dietas com levedura de cana-de-açúcar spray dried em baixos níveis e do mineral zinco (óxido de zinco) em altos níveis, como pró-nutrientes em rações para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), e verificar possíveis diferenciações de alguns parâmetros hematológicos e alterações macroscópicas do sistema digestório.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante 90 dias no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (*AquaNutri*) do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp, Câmpus de Botucatu, unidade integrada ao Centro de Aqüicultura da Unesp.

Foram utilizados 200 alevinos machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso médio de $1,12 \pm 0,05$ g, provenientes de mesma desova e revertidos sexualmente para machos, numa densidade de estocagem de 5 peixes por aquário. Os peixes foram distribuídos aleatoriamente em 40 aquários circulares com volume individual de 250 litros. O conjunto era dotado de sistema para recirculação de água, com biofiltro e aquecimento controlado por termostato digital. A temperatura da água dos aquários foi aferida diariamente, e semanalmente coletou-se amostra de água para determinação do teor de oxigênio dissolvido e do pH.

Dez diferentes rações foram formuladas com base na exigência nutricional da espécie, de acordo com NRC (1993), sendo isoprotéicas (30,0% de PD), isocalóricas (3.200 kcal ED/kg ração) e com a mesma quantidade de fibra (6,6% FB), conforme consta nas tabelas 1 e 2. Nestas rações foram incluídos três níveis de levedura (L) (0,5; 1,0 e 2,0%), desidratada pelo método *spray dried*, originária da fermentação da cana-de-açúcar, e três níveis de zinco (Z) (óxido de zinco) (150, 300 e 600 mg/kg ração); a ração controle foi caracterizada pela não suplementação de pró-nutrientes. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3 (níveis de levedura e zinco) com tratamento adicional (controle) e quatro repetições.

Todos os ingredientes utilizados nas rações experimentais foram moídos em moinho de facas, com peneira para partículas com diâmetro máximo de 0,5 mm. Os ingredientes foram homogeneizados e posteriormente hidratados para peletização. As rações foram secas em estufa de ventilação forçada durante 24 horas a 55,0 °C

e, após, processadas para a obtenção de grânulos com os seguintes diâmetros: 1,0; 1,7; 2,0 e 3,36 mm, os quais foram oferecidos de acordo com o desenvolvimento dos peixes. Os peixes foram alimentados *ad libitum*, seis vezes ao dia,

das 8h às 18h, numa proporção que possibilitou máxima ingestão sem perdas de ração. Semanalmente foi realizada limpeza dos aquários, com auxílio de sifão, para retirada de eventuais resíduos de ração e fezes.

Tabela 1. Composição porcentual das rações (base na matéria natural) empregadas no experimento com tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (L=levedura; Z=zinco)

| Ingrediente (%) | Tratamento | | | | | | | | | |
|---------------------------------|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | L 0 Z 0 | L 0,5 Z 150 | L 0,5 Z 300 | L 0,5 Z 600 | L 1,0 Z 150 | L 1,0 Z 300 | L 1,0 Z 600 | L 2,0 Z 150 | L 2,0 Z 300 | L 2,0 Z 600 |
| Milho | 15,42 | 15,38 | 15,36 | 15,32 | 14,82 | 14,78 | 14,74 | 13,90 | 13,88 | 13,84 |
| Farelo de soja | 66,30 | 66,00 | 66,00 | 66,00 | 66,00 | 66,00 | 66,00 | 66,00 | 66,00 | 66,00 |
| Farelo de trigo | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 |
| Zinco ¹ | 0,00 | 0,02 | 0,04 | 0,08 | 0,02 | 0,04 | 0,08 | 0,02 | 0,04 | 0,08 |
| Levedura | 0,00 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| DL-metionina | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 |
| Fosfato bicálcico | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 |
| Calcário | 0,93 | 0,76 | 0,76 | 0,76 | 0,82 | 0,84 | 0,84 | 0,84 | 0,84 | 0,84 |
| Óleo de soja | 4,50 | 4,50 | 4,50 | 4,50 | 4,50 | 4,50 | 4,50 | 4,40 | 4,40 | 4,40 |
| Suplemento min/vit ² | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 |
| Vitamina C | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 |
| Sal comum (NaCl) | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 |
| BHT ³ | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 |
| Total | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

L0,0:Z0=Controle (0,0% L e 0,0 mg Zn/kg ração); L0,5:Z150 (0,5% L e 150 mg Zn/kg ração); L0,5:Z300 (0,5% L e 300 mg Zn/kg ração); L0,5:Z600 (0,5% L e 600 mg Zn/kg ração); L1,0:Z150 (1,0% L e 150 mg Zn/kg ração); L1,0:Z300 (1,0% L e 300 mg Zn/kg ração); L1,0:Z600 (1,0% L e 600 mg Zn/kg ração); L2,0:Z150 (2,0% L e 150 mg Zn/kg ração); L2,0:Z300 (2,0% L e 300 mg Zn/kg ração); L2,0:Z600 (2,0% L e 600 mg Zn/kg ração)

¹ Óxido de zinco (74%)

² Suplemento mineral e vitamínico - Supre Mais - Níveis de garantia por kg do produto: Vitaminas - A=1.200.000 UI; D3=200.000 UI; E=12.000 mg; K3=2.400 mg; B1=4.800 mg; B2=4.800 mg; B6=4.000 mg; B12=4.800 mg; ac. fólico=1.200 mg; pantotenato a=12.000 mg; biotina=48 mg; colina=65.000 mg; niacina=24.000 mg; Minerais - Fe=10.000 mg; Cu=600 mg; Mn=4.000 mg; Zn=0 mg; I=20 mg; Co=2 mg; Se=20 mg

³ BHT = Butil hidroxi tolueno, antioxidante

Tabela 2. Composição químico-bromatológica (expressa em 100% de matéria seca) das rações empregadas no experimento com tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (L=levedura; Z=zinco)

| Composição | Tratamento | | | | | | | | | |
|---------------------------|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | L 0 Z 0 | L 0,5 Z 150 | L 0,5 Z 300 | L 0,5 Z 600 | L 1,0 Z 150 | L 1,0 Z 300 | L 1,0 Z 600 | L 2,0 Z 150 | L 2,0 Z 300 | L 2,0 Z 600 |
| Proteína bruta (%) | 32,84 | 32,89 | 32,88 | 32,88 | 33,02 | 33,02 | 33,02 | 33,31 | 33,31 | 33,31 |
| Proteína digest. (%) | 30,00 | 30,03 | 30,03 | 30,03 | 30,15 | 30,15 | 30,15 | 30,41 | 30,41 | 30,41 |
| Energia digest. (Kcal/kg) | 3199 | 3207 | 3206 | 3205 | 3206 | 3205 | 3204 | 3203 | 3202 | 3201 |
| Fibra bruta (%) | 6,61 | 6,58 | 6,58 | 6,58 | 6,57 | 6,57 | 6,57 | 6,56 | 6,56 | 6,55 |
| Lipídio total (%) | 7,25 | 7,34 | 7,13 | 6,79 | 7,51 | 7,19 | 7,30 | 7,14 | 6,84 | 6,74 |
| Cálcio (%) | 0,77 | 0,71 | 0,71 | 0,71 | 0,73 | 0,74 | 0,74 | 0,74 | 0,74 | 0,74 |
| P disponível (%) | 0,76 | 0,77 | 0,77 | 0,77 | 0,77 | 0,77 | 0,77 | 0,77 | 0,77 | 0,77 |
| Zinco (mg/kg de ração) | 47,3 | 150,4 | 300,6 | 600,3 | 150,7 | 300,1 | 600,6 | 150,5 | 300,7 | 600,4 |
| Metionina (%) | 0,51 | 0,51 | 0,51 | 0,51 | 0,51 | 0,51 | 0,51 | 0,52 | 0,52 | 0,52 |
| Treonina (%) | 1,09 | 1,10 | 1,10 | 1,10 | 1,11 | 1,11 | 1,11 | 1,13 | 1,13 | 1,13 |
| Lisina | 1,84 | 1,84 | 1,84 | 1,85 | 1,85 | 1,85 | 1,88 | 1,88 | 1,88 | 1,88 |

L0,0:Z0=Controle (0,0% L e 0,0 mg Zn/kg ração); L0,5:Z150 (0,5% L e 150 mg Zn/kg ração); L0,5:Z300 (0,5% L e 300 mg Zn/kg ração); L0,5:Z600 (0,5% L e 600 mg Zn/kg ração); L1,0:Z150 (1,0% L e 150 mg Zn/kg ração); L1,0:Z300 (1,0% L e 300 mg Zn/kg ração); L1,0:Z600 (1,0% L e 600 mg Zn/kg ração); L2,0:Z150 (2,0% L e 150 mg Zn/kg ração); L2,0:Z300 (2,0% L e 300 mg Zn/kg ração); L2,0:Z600 (2,0% L e 600 mg Zn/kg ração)

Para análise das variáveis hematológicas utilizaram-se seis peixes por tratamento, após o período experimental. Os animais foram sedados com benzoína (1,0 g/15 L) e, após dessensibilização, o sangue foi coletado por punção do vaso caudal com seringas de 1,0 mL, banhadas com anticoagulante EDTA a 3,0%. A determinação do número de eritrócitos foi realizada pelo método do hemocítmetro, em câmara de Neubauer, utilizando-se como corante o azul de toluidina (Merck®) a 0,01%. O hematócrito foi obtido utilizando-se o método do micro-hematócrito, e a proteína plasmática total, por meio de refratômetro. Determinaram-se também o índice hematimétrico e o volume globular médio.

Após a retirada de sangue, os peixes foram eviscerados para posterior análise macroscópica do sistema digestório. Para proceder ao exame detalhado dos órgãos realizaram-se três incisões: uma paralela ao dorso, na região abdominal ventral, e duas no sentido dorso-ventral, sendo uma próxima ao opérculo e outra na abertura do poro urogenital. Assim, as vísceras ficaram expostas, permitindo análise completa com o emprego de uma lupa com aumento de dez vezes e assumindo, como critério de padrão avaliativo, a coloração e a morfologia dos órgãos dos indivíduos do tratamento controle.

O estudo estatístico das variáveis hematológicas foi realizado a partir da técnica de análise de variância (ANOVA) para experimento em esquema fatorial 3x3 com tratamento adicional (STEEL e TORRIE, 1984). A análise incluiu o contraste do tratamento controle com os demais tratamentos, bem como o estudo da interação entre os níveis de levedura e zinco. O teste de Tukey foi utilizado na comparação múltipla das médias. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o procedimento GLM do pacote computacional SAS®, no nível de 5,0% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental, a temperatura da água variou de 25,2 °C a 26,5 °C. Os níveis médios de oxigênio dissolvido oscilaram entre 7,4 e 8,2 mg/L, valores estes considerados satisfatórios para o desenvolvimento dos peixes (BOYD, 1990). Os valores de pH variaram de 6,5 a 7,3, e, segundo ARANA (1997), valores de pH na faixa de 6,5 a 9,0 são adequadas para a produção de peixes.

No final do experimento (após 90 dias), o peso final médio \pm desvio padrão dos peixes foi 100,1 \pm

10,1 gramas. Não se constataram diferenças macroscópicas quanto à morfologia do fígado e rins dos peixes submetidos aos diferentes tratamentos. O fígado apresentou coloração castanho-clara e lobos bem definidos, segundo padrão de normalidade descrito por ROBERTS (1989). Também não foram observadas alterações macroscópicas nos demais órgãos avaliados.

Os valores médios do número de eritrócitos, do hematócrito (HTC), do volume globular médio (VGM) e do teor de proteína plasmática total (PPT) encontram-se na tabela 3.

A análise de variância demonstra que para a variável número de eritrócitos não houve efeito significativo dos diferentes tratamentos, assim como para a interação entre os níveis de levedura e de zinco. Nos peixes alimentados com rações suplementadas com 0,5% de levedura, à medida que se aumentou o nível de zinco observou-se aumento no número de eritrócitos. Esta mesma tendência foi observada quando as rações foram suplementadas com 150 mg Zn/kg de ração e crescentes dosagens de levedura.

Para o hematócrito, embora não se tenha constatado efeito significativo da inclusão de levedura e zinco, observou-se efeito da interação ($p < 0,01$) entre estes pró-nutrientes. Comparando-se as médias pelo teste de Tukey, constata-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores do hematócrito, em função dos diferentes níveis de levedura e de zinco.

Na comparação do mineral zinco para cada nível de levedura, verifica-se que a suplementação de 0,5% de levedura em relação às diferentes suplementações de zinco não proporcionou diferença estatística no hematócrito dos animais alimentados com estas rações. O tratamento com 150 mg Zn/kg de ração revelou pequena tendência de maior valor de hematócrito dos peixes. Para a inclusão de 1,0% de levedura na ração, o maior valor deste parâmetro hematológico foi observado nos peixes que receberam ração com 150 mg Zn/kg de ração. Entretanto, esta dosagem não diferiu da suplementação com 600 mg Zn/kg de ração, sendo estes níveis superiores ao de 300 mg Zn/kg. Quando utilizados 2,0% de levedura, o maior valor de hematócrito foi observado no tratamento que continha 300 mg Zn/kg de ração, sendo este nível superior ao de 600 mg Zn/kg e semelhante ao de 150 mg Zn/kg de ração.

Tabela 3. Valores de número de eritrócitos (Erit.), hematócrito (HTC), volume globular médio (VGM) e proteína plasmática total (PPT) em alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com rações contendo diferentes níveis de levedura e zinco

| <i>Parâmetros hematológicos</i> | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|--------------------------------|------|------|------------|-----------|----------|--------------------------|-----------|-----------|----------------|------|------|
| | Erit. (10 ⁶ /µL) | | | HTC (%) | | | VGM ¹ (fL) | | | PPT (mg/dl) | | |
| Adicional | 1,39 | | | 25,00 | | | 179,86 | | | 4,10 | | |
| | Zinco (mg/kg ração) | | | | | | | | | | | |
| Levedura (%) | 150 | 300 | 600 | 150 | 300 | 600 | 150 | 300 | 600 | 150 | 300 | 600 |
| 0,5 | 1,33 | 1,41 | 1,73 | 29,00 aA | 26,00 aAB | 27,00 aB | 218,04 bB | 184,40 bA | 156,07 aA | 4,13 | 4,10 | 4,17 |
| 1,0 | 1,34 | 1,60 | 1,56 | 28,00 bA | 23,00 aA | 27,00 bB | 208,95 bB | 143,75 aA | 173,07 aA | 4,17 | 4,13 | 4,07 |
| 2,0 | 1,77 | 1,53 | 1,55 | 25,00 abA | 29,00 bB | 29,00 bB | 141,24 aA | 189,54 aA | 148,38 aA | 4,13 | 4,17 | 4,07 |
| CV | 8,24 | | | 4,56 | | | 5,42 | | | 10,31 | | |
| Adicional x fatores * | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | |
| Efeito Levedura * | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | |
| 0,5 | 1,49 | | | 27,33 | | | 186,17 | | | 4,13 | | |
| 1,0 | 1,50 | | | 26,00 | | | 175,26 | | | 4,12 | | |
| 2,0 | 1,62 | | | 27,67 | | | 159,72 | | | 4,12 | | |
| Efeito Zinco * | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | |
| 150 | 1,48 | | | 27,33 | | | 189,41 | | | 4,14 | | |
| 300 | 1,51 | | | 26,00 | | | 172,56 | | | 4,13 | | |
| 600 | 1,61 | | | 27,67 | | | 159,17 | | | 4,10 | | |
| Levedura x Zinco * | ns | | | 0,01 | | | 0,01 | | | ns | | |

Letra minúscula na comparação de levedura para cada nível de zinco (coluna); Letra maiúscula na comparação de zinco para cada nível de levedura (linha); Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$); *Nível de P, ¹ VGM (fL)=hematócrito x 10/no eritrócitos x 100; Peso médio final: 100,05±10,10 g (Amostragem representativa de 60 peixes)

Comparando a presença de levedura para cada nível de zinco na ração, pode-se constatar que no tratamento com 150 mg Zn/kg de ração não houve diferença entre os valores de hematócrito nas diferentes suplementações de levedura. Para o nível de 300 mg Zn/kg, o melhor valor de hematócrito foi verificado quando o teor de levedura foi de 2,0%, sendo que esse nível foi superior ao da suplementação com 1,0% de levedura. Os tratamentos com 600 mg Zn/kg de ração, tanto aquele suplementado com 0,5% ou com 1,0% de levedura, apresentaram resultados numéricos idênticos, sendo estes superiores ($p < 0,05$) aos obtidos com suplementação de 2,0% de levedura.

Em estudo com truta arco-íris, SÁNCHEZ-MUNIZ *et al.* (1979) observaram que a utilização de levedura (*Hansenula anomala*) como fonte protéica proporcionou tendência de aumento do hematócrito e diminuição da concentração de hemoglobina. Utilizando esta mesma levedura em rações para a mesma espécie, SÁNCHEZ-MUNIZ *et al.* (1982) observaram

que os peixes submetidos ao tratamento com levedura apresentaram eritrócitos com alterações em seu tamanho e formato, inferindo que o peróxido de hidrogênio resultante do catabolismo de ácidos nucléicos provocou a oxidação degenerativa destas células. Nesse mesmo sentido, TACON e COOKE (1980) afirmaram que os ácidos nucléicos, quando utilizados em níveis consideráveis em dietas para peixes, podem causar efeitos prejudiciais, em consequência de alterações metabólicas, as quais levam ao acúmulo de ácido úrico e uréia no sangue, situação em que os peixes podem apresentar quadro de anemia microcítica e anomalia eritrocitária.

Os valores de volume globular médio comportaram-se de maneira semelhante aos de hematócrito, com interação significativa ($p < 0,01$) entre levedura e zinco, e de forma oposta ao número de eritrócitos, uma vez que o volume globular médio é o quociente entre o valor de hematócrito e o número de eritrócitos multiplicado por dez.

Por meio do teste de comparação múltipla de médias de Tukey foi possível verificar que a suplementação da ração com 0,5% de levedura, quando comparada aos diferentes níveis de zinco, proporcionou menor volume globular médio nos tratamentos em que se utilizaram 300 e 600 mg Zn/kg de ração, sendo estes inferiores ($p < 0,05$) ao nível de 150 mg Zn/quilo. Quando se utilizou 1,0% de levedura nas rações, a mesma tendência foi observada, sendo que os maiores níveis de suplementação de zinco proporcionaram volume globular médio inferior ($p < 0,05$) ao proporcionado pelo menor nível de zinco suplementado. Em relação à inclusão de 2,0% de levedura, não se observou efeito significativo do aumento da suplementação de zinco, mas pôde-se observar pequena tendência de menor volume globular médio no tratamento com 600 mg Zn/kg de ração.

Comparando-se cada nível de zinco em relação à levedura, é possível observar que a suplementação de 150 mg Zn/kg de ração resultou em menor volume globular médio quando se utilizaram 2,0% de levedura e que este nível foi inferior ($p < 0,05$) ao de 1,0 e 0,5%. As suplementações de 300 e 600 mg Zn/kg em relação aos diferentes níveis de levedura apresentaram tendências semelhantes, não sendo observado efeito significativo para o aumento da inclusão de levedura.

SÁNCHEZ-MUNIZ *et al.* (1979), avaliando a levedura em pesquisa com trutas, observaram aumento significativo ($p < 0,01$) do número de eritrócitos, decréscimo da taxa de hemoglobina globular média e do volume globular médio e tendência de aumento do hematócrito e de decréscimo da hemoglobina, e, a partir destes resultados, os autores concluíram que as trutas alimentadas com altos níveis de levedura apresentavam anemia microcítica e hipocrômica e sugeriram que este quadro pode ser atribuído à alteração do mecanismo de transferência do ferro, parcialmente bloqueado pela diminuição da concentração de transferrina, a qual participa diretamente da interiorização do ferro na célula, para síntese da molécula de hemoglobina.

Na presente pesquisa não foram observadas alterações morfológicas nos eritrócitos e nem sinais clínicos de anemia microcítica e hipocrômica, como descrito na literatura. Os juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as rações suplementadas com os diferentes níveis de levedura e de zinco não sofreram ação negativa do catabolismo de ácidos nucléicos, indicando que o período de administração destes pró-nutrientes e os níveis propostos neste estudo podem ser utilizados com segurança para esta espécie.

Por outro lado, KNOX *et al.* (1982; 1984) observaram que altas concentrações de zinco na dieta podem provocar efeito quelante com diversos minerais, dentre eles o ferro e o cobre que participam diretamente da formação de eritrócitos, causando, assim, deficiência da eritropoiese. KNOX *et al.* (1982; 1984) também testaram altos níveis de suplementação de zinco em rações para truta e, analisando os parâmetros sanguíneos, observaram redução da taxa de hemoglobina e diminuição do hematócrito e da concentração de cobre hepático. Por outro lado, GATLIN *et al.* (1989), avaliando o efeito do zinco em bagre-do-canal (*Ictalurus punctatus*), não constataram dano nos eletrólitos sanguíneos dos peixes alimentados com dietas contendo 200 mg Zn/kg de ração.

Como observado para a levedura, os níveis utilizados de zinco não proporcionaram sinais que indicassem deficiência na formação dos eritrócitos e alterações prejudiciais no padrão hematológico dos peixes. A suplementação de até 600 mg Zn/kg de rações para tilápia-do-Nilo não determinou efeito quelante do zinco com outros minerais importantes, como o ferro e o cobre, os quais participam da formação de eritrócitos.

A concentração de proteína plasmática total não revelou efeito significativo para tratamento e para a interação entre levedura e zinco, conforme pode ser observado na tabela 3. Segundo FELDMAN (2000), este parâmetro sanguíneo reflete o estado nutricional, o balanço hormonal, o balanço hídrico e a higidez do animal. SWENSON (1996) identificou as proteínas plasmáticas: albumina, globulinas e fibrinogênio, as quais, por meio da diminuição de sua concentração, podem indicar alteração hepática e/ou que a ração não é balanceada.

Os resultados observados na presente pesquisa com tilápia-do-Nilo alimentada com rações contendo diferentes níveis de levedura e de zinco demonstram que não houve alteração significativa da concentração de proteína plasmática total. Isso indica que as rações estavam adequadamente balanceadas em aminoácidos para a espécie e para o estágio de desenvolvimento, e que mesmo o maior nível de zinco (600 mg Zn/kg de ração) não determinou severas alterações nos parâmetros avaliados.

Comparando-se os valores sanguíneos da presente pesquisa com os verificados na literatura para a mesma espécie, constata-se que são concordantes com os valores determinados por FELDMAN (2000): $1,91 \times 10^6/\mu\text{L}$ a $2,83 \times 10^6/\mu\text{L}$ para os eritrócitos; 27,0% a 47,0% para o hematócrito; 115,0% a 183,0%

para o VGM, e ainda com os encontrados por TAVARES-DIAS e FAUSTINO (1998): $1,73 \times 10^6/\mu\text{L}$ a $4,83 \times 10^6/\mu\text{L}$ para os eritrócitos; 23,0% a 41,0% para o hematócrito; 70,8% a 205,5% para o VGM.

HISANO *et al.* (2004) verificaram que a inclusão da levedura e do mineral zinco em rações para tilápia-do-Nilo proporcionam melhor desempenho dos peixes e digestibilidade das rações, quando se utilizam 1,0% de levedura e 300mg Zn/kg de ração, destacando a interação positiva entre estes dois pró-nutrientes e sua viabilidade econômica de utilização em rações para esta espécie.

Os resultados obtidos para os parâmetros hematológicos e a análise macroscópica do sistema digestório demonstram que os dois pró-nutrientes, levedura de cana-de-açúcar, desidratada pelo método spray dried, e o zinco (óxido de zinco), quando presentes em rações práticas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) não provocaram efeitos deletérios nos animais, podendo ser considerados microingredientes de alimentação seguros. Assim, conclui-se que os níveis de suplementação dos pró-nutrientes não provocam alterações prejudiciais ao padrão hematológico de tilápia-do-Nilo e que essas substâncias podem ser utilizadas em combinação, para compor rações para esta espécie.

AGRADECIMENTOS

Às empresas: ICC Com. Export. Import. Ltda; Açucareira Zillo Lorenzetti S.A.; e Supre Mais Produtos Bioquímicos Ltda, pelo apoio científico, e à FAPESP, pelo financiamento do Projeto (Proc. 00/02326-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANA, L.V. 1997 *Princípios químicos de qualidade da água em Aquicultura*. Florianópolis: Ed. UFSC. 166p.
- BOYD, C.E. 1990 *Water quality management in ponds for fish culture. Development in Aquaculture and Fisheries Science*. New York: Elsevier Scientific Publishing Company. 480p.
- FELDMAN, B.F. 2000 *Schalm's Veterinary Hematology*. 5.ed. Philadelphia: Ed. Lippincott Williams and Wilkins. 1221p.
- GATLIN, D.M.; PHILLIPS, H.F.; TORRANS, E.L. 1989 Effects of various levels of dietary copper and zinc of channel catfish. *Aquaculture*, Amsterdam, 76: 127-134.
- HAHN, J.D. e BAKER, D.H. 1993 Growth and plasma zinc responses of young pigs fed pharmacologic levels of zinc. *Journal of Animal Science*, London, 71: 3020-3024.
- HISANO, H.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FREIRE, E.S.; GONÇALVES, G.S.; FERRARI, J.E.C. 2004 Zinco e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum*, Maringá, 26(2): 171-179.
- KNOX, D.; COWEY, C.B.; ADRON, J.W. 1982 Effects of dietary copper and copper : zinc ratio on rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, Amsterdam, 27: 111-119.
- KNOX, D.; COWEY, C.B.; ADRON, J.W. 1984 Effects of dietary zinc intake upon copper metabolism in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, Amsterdam, 40: 199-207.
- LI, P. e GATLIN III, D.M. 2003 Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture*, Amsterdam, 219: 681-692.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL) 1993 *Nutrient requirements of fish*. Washington: National Academy Press. 124p.
- 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.). *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Amsterdam, 85: 41-50.
- ROBERTS, R.J. 1989 *Fish Pathology*. 2.ed. Philadelphia: Ed. Elsevier. 467p.
- RUMSEY, G.L.; KINSELLA, J.E.; SHETTY, K.J. 1991 Effect of high dietary concentration of brewers dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Sci. Technol.*, Amsterdam, 33: 177-183.
- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J.; DE LA HIGUERA, M.; MATAIX, F.J.; VARELA, G. 1979 The yeast *Hansenula anomala* as protein source for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Hematological aspects. *Comp. Biochem. Physiol.*, Oxford, 63A(1): 153-157.
- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J.; DE LA HIGUERA, M.; MATAIX, F.J.; VARELA, G. 1982 Alterations of erythrocytes of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by the use of *Hansenula anomala* yeast as sole protein source. *Comp. Biochem. Physiol.*, Oxford, 72A(4): 693-696.
- STEEL, R.G.D. e TORRIE, S.H. 1984 *Principles and procedures of statistics: a biometrical approach*. 2.ed. London: Mc Graw-Hill International. 633p.

- SWENSON, M.J. 1996 Propriedades fisiológicas e constituintes químicos e celulares do sangue. In: DUKES, H.H.; SWENSON, M.J.; REECE, W.O. *Fisiologia dos animais domésticos*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.19-43.
- TACON, A.G.J. e COOKE, D.J. 1980 The nutrition value of dietary nucleic acids to trout. *Nutri. Rep. Int. Stonehan.*, 22 (5): 631-640.
- TACON, A.G.J. 1990 *Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. The essential nutrients*. 1.ed. Washington D.C.: Argent Laboratories Press-Redmond. 208p.
- TAVARES-DIAS, M. e FAUSTINO, C.D. 1998 Parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) em cultivo extensivo. *Ars Veterinária, Jaboticabal*, 14(3): 254-263.