

Notas Científicas

Incubação de ovos de pacamã com florfenicol

Áurea Luiza Dayrell Batista⁽¹⁾, Reinaldo Melillo Filho⁽¹⁾, Rodrigo Takata⁽²⁾, Walisson de Souza e Silva⁽¹⁾, André Eduardo Heringer Santos⁽¹⁾ e Ronald Kennedy Luz⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Zootecnia, Laboratório de Aquacultura, Avenida Antônio Carlos, nº 6.627, CEP 30161-970 Belo Horizonte, MG, Brasil. E-mail: aureadayrell@gmail.com, reimelillo@yahoo.com.br, walissondsouza@gmail.com, andreduardohs@globo.com, luzrk@yahoo.com ⁽²⁾Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro, Praça Fonseca Ramos, s/nº, Terminal Rodoviário Roberto Silveira, CEP 24030-020 Niterói, RJ, Brasil. E-mail: rodrigo.takata@bol.com.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de doses de florfenicol na incubação de ovos de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). Na primeira etapa, os ovos foram submetidos a concentrações de florfenicol entre 0 e 500 mg L⁻¹, durante 24 horas. Na segunda etapa, as larvas foram observadas até o sétimo dia após a eclosão. Na terceira etapa, as larvas foram alimentadas por dez dias. Peso e comprimento apresentaram respostas que variaram de acordo com a fase de desenvolvimento e as concentrações de florfenicol. Concentrações menores que 309 mg L⁻¹ de florfenicol podem ser usadas sem afetar as larvas nas fases posteriores.

Termos para indexação: *Lophiosilurus alexandri*, desenvolvimento inicial, tratamento preventivo.

Incubation of “pacamã” eggs with florfenicol

Abstract – The objective of this work was to evaluate the effect of florfenicol doses on the incubation of “pacamã” (*Lophiosilurus alexandri*) eggs. In the first phase, eggs were subjected to florfenicol doses between 0 and 500 mg L⁻¹, for 24 hours. In the second phase, larvae were observed until the seventh day after hatching. In the third phase, larvae were fed for ten days. Weight and length showed responses that varied according to the development stage and to florfenicol doses. Doses lower than 309 mg L⁻¹ florfenicol can be used without affecting larvae in later stages.

Index terms: *Lophiosilurus alexandri*, early development, preventive treatment.

O pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) é um peixe típico da bacia do Rio São Francisco, que tem importância em programas de repovoamento. Tanto em condições de viveiro quanto em condições controladas, a reprodução ocorre em substrato arenoso, o que pode gerar problemas ao bom desenvolvimento dos ovos. Sabe-se que as superfícies das mucosas de ovos de peixes marinhos são substratos para a adesão e a colonização de bactérias (Hansen et al., 1992). Essa colonização, eventualmente, resulta em doença e aumento da mortalidade em ambientes inadequados. Contudo, são escassas as informações referentes aos ovos de peixes de água doce.

De acordo com Pavanelli et al. (2008), em peixes de água doce, a assepsia dos ovos embrionados é fundamental para evitar a contaminação da superfície destes. O florfenicol é um antibiótico sintético que apresenta largo espectro ativo contra diversas bactérias

gram-negativas e gram-positivas (Schering-Plough Animal Health, 2005). No entanto, ainda não há recomendação para seu uso na incubação de ovos de peixes neotropicais, apenas relatos do produto adicionado à ração (Schering-Plough Animal Health, 2005; Soto et al., 2013), aplicado diretamente nos peixes (Sun et al., 2010) ou bioencapsulado a náuplios de *Artemia* sp. para ser oferecido às larvas (Roiha et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de doses de florfenicol na incubação de ovos de pacamã.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquacultura, da Universidade Federal de Minas Gerais, entre 1 e 20 de março de 2013.

Uma desova com peso total de 112,5 g foi dividida em 12 fragmentos de 9,0±1,0 g, que foram dispostos em 12 béqueres de 500 mL de volume útil, o que totalizou quatro tratamentos com três repetições cada um, em

delineamento experimental inteiramente casualizado. Foram utilizadas as seguintes concentrações de florfenicol: 0, 125, 250 e 500 mg L⁻¹. As concentrações de florfenicol foram mantidas durante as primeiras 24 horas de incubação. Após este período, foi realizada renovação total por água sem antibiótico. A cada 24 horas, 90% do volume de cada béquer foi renovado.

O experimento foi dividido em três etapas, com temperatura mantida a 28°C, oxigênio dissolvido acima de 6 mg L⁻¹ (aeração artificial) e pH de 8,2±0,1. A primeira etapa de incubação até a eclosão durou 48 horas a partir da coleta da desova. Durante essa etapa, os ovos inviáveis foram retirados e quantificados. A segunda etapa foi até sete dias após a eclosão (início da alimentação exógena). Nesse período, as larvas mortas foram quantificadas diariamente. Em seguida, foi determinada a sobrevivência, calculada como: sobrevivência = 100 × larvas vivas / (larvas vivas + ovos inviáveis + larvas mortas). Com os dados do total de ovos, também foram calculadas as percentagens de ovos inviáveis e larvas mortas.

Ao final da primeira e da segunda etapa, foram coletadas cinco larvas de cada unidade experimental. As larvas foram fixadas em formalina a 4% para posterior biometria, com uso de paquímetro digital série 799A (Starret Indústria e Comércio Ltda., Itu, SP) e balança de precisão de 0,0001 g, modelo AD 5002 (Marte Científica, São Paulo, SP).

A terceira etapa correspondeu à fase de larvicultura (dez dias de alimentação exógena). Foram mantidas 20 larvas por béquer de 500 mL, tendo-se considerado os tratamentos iniciais. A alimentação foi com náuplios de *Artemia* sp. recém eclodidos, na quantidade diária de 1.500 e 2.000 náuplios por larva do primeiro ao quinto dia e do sexto ao décimo dia, respectivamente. Em seguida, foi determinada a

sobrevivência e realizada a biometria como descrito anteriormente.

Os dados foram submetidos à análise de regressão para determinação do melhor modelo a ser utilizado.

Ao final da segunda etapa (final do período lecitotrófico), a percentagem de ovos inviáveis e a mortalidade apresentaram efeito quadrático, com menores valores estimados pela derivada das equações a 309,02 e 275,52 mg L⁻¹ de florfenicol, na fase de incubação, respectivamente (Tabela 1). A sobrevivência também apresentou efeito quadrático, ao final da segunda e da terceira etapa, com maiores sobrevivências estimadas pelas derivadas das equações a 299,80 e 78,36 mg L⁻¹ de florfenicol, respectivamente. Porém, a sobrevivência para a dose de 250 mg L⁻¹ foi superior a 95%, com redução drástica para a maior dose do antibiótico. Na literatura, não foram encontrados dados quanto ao uso de florfenicol na incubação de ovos de peixes de água doce. Soto-Rodríguez et al. (2006) verificaram que, para a fase de zoea 1 do camarão *Litopenaeus vannamei*, doses acima de 20 µg mL⁻¹, em banhos de imersão de 24 horas, foram tóxicas. Segundo esses mesmos autores, esse fato não foi observado para a fase de zoea 2, o que indicou efeito da idade na susceptibilidade ao antibiótico. Os resultados obtidos são indicativos da necessidade de estudos futuros para testar doses de florfenicol em larvas e juvenis de pacamã, com vistas a tratamentos eficientes dos animais nos diferentes estágios de desenvolvimento.

Para o peso das larvas no final da etapa I, houve relação direta com a concentração de florfenicol (Tabela 2). Entretanto, durante a etapa II, essa relação foi inversamente proporcional à concentração de florfenicol, o que sugere possível efeito a posteriori. Para o comprimento, a sobrevivência e o peso das larvas, no momento da eclosão, não foi constatada

Tabela 1. Percentagem (média±desvio-padrão) de ovos inviáveis, mortalidade e sobrevivência de larvas de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) ao final das etapas, cujos ovos foram incubados durante 24 horas em diferentes concentrações de florfenicol.

Parâmetros	Concentrações de florfenicol (mg L ⁻¹)				R ²	Ponto de máxima	Equação
	0	125	250	500			
Ovos inviáveis (%)	31,1±6,2	10,5±6,2	9,66±6,2	14,5±6,2	91,6 (p=0,059)	309,02	$\hat{y} = 29,71394 - 0,15390x + 0,000249x^2$
Mortalidade ao final da etapa II ⁽¹⁾ (%)	10,2±3,1	1,30±3,1	4,16±3,1	6,49±3,1	67,9 (p=0,131)	275,52	$\hat{y} = 9,16458 - 0,05235x + 0,000095x^2$
Sobrevivência ao final da etapa II (%)	58,6±9,2	88,2±9,2	86,2±9,2	79,0±9,2	86,1 (p=0,073)	299,80	$\hat{y} = 61,11842 + 0,20627x - 0,000344x^2$
Sobrevivência ao final da etapa III ⁽²⁾ (%)	98,3±3,4	100,0±3,4	95,0±3,4	76,7±3,4	99,6 (p=0,072)	78,36	$\hat{y} = 98,65152 + 0,02006x - 0,000128x^2$

⁽¹⁾Etapa II, período lecitotrófico, ou seja, da eclosão até o início da alimentação exógena, fase vitelínica que compreende do primeiro ao sétimo dia após a eclosão. ⁽²⁾Etapa III, dez dias de alimentação exógena, do oitavo ao décimo sétimo dia após a eclosão.

Tabela 2. Média±desvio-padrão do peso e do comprimento de larvas de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*), provenientes de ovos incubados durante 24 horas em diferentes concentrações de florfenicol.

Etapas ⁽¹⁾	Concentrações de florfenicol (mg L ⁻¹)				R ²	Equação
	0	125	250	500		
Peso (mg)						
Etapa I	6,74±0,18	6,91±0,18	6,96±0,18	7,30±0,18	97,76 (p=0,0587)	$\hat{y} = 0,006743 + 0,000001x$
Etapa II	18,53±0,59	17,48±0,59	16,68±0,59	16,27±0,59	87,13 (p=0,0265)	$\hat{y} = 0,018197 - 0,000004x$
Etapa III	72,16±5,23	74,18±5,23	78,90±5,23	80,42±5,23	^{ns} (p=0,8510)	-
Comprimento (mm)						
Etapa I	7,90±0,06	8,06±0,06	7,91±0,06	7,99±0,06	^{ns} (p=0,2772)	-
Etapa II	13,17±0,16	12,75±0,16	12,61±0,16	12,22±0,16	95,20 (p=0,0036)	$\hat{y} = 13,082000 - 0,001784x$
Etapa III	20,94±0,48	21,51±0,48	21,56±0,48	21,93±0,48	^{ns} (p=0,5756)	-

⁽¹⁾Etapa I, período da incubação até a eclosão, com duração de 48 horas a partir da coleta da desova; etapa II, período lecitotrófico, ou seja, da eclosão até o início da alimentação exógena, fase vitelínica que compreende do primeiro ao sétimo dia após a eclosão; etapa III, dez dias de alimentação exógena, do oitavo ao décimo sétimo dia após a eclosão. ^{ns}Não significativo.

diferença entre os tratamentos. Ao final da etapa II, foi registrada relação inversamente proporcional às doses de florfenicol. Já ao final da etapa III, não houve diferença entre os tratamentos. Os resultados das etapas II e III foram semelhantes aos registrados para o peso dos animais. Contudo, não foram encontrados, na literatura, dados que expliquem esse possível efeito a posteriori do florfenicol nas larvas de peixes, na etapa II, uma vez que os experimentos são curtos e visam avaliar a eficiência no controle bacteriano. Como se desconhece a capacidade de absorção do antibiótico pelos ovos de pacamã, surge a hipótese de uma possível reação de estresse químico que afeta o desempenho das larvas durante o período lecitotrófico. Gaikowski et al. (2013) utilizaram Aquaflor (500 g de florfenicol kg⁻¹) na ração para tilápias (*Oreochromis* sp.), nas doses de 0, 15, 45 e 75 mg kg⁻¹ por peso vivo por dia, durante 20 dias, e observaram redução no consumo, nos últimos dez dias de experimento, para as maiores doses, além de redução no peso e alterações histopatológicas nas brânquias, no fígado e nos rins. Dessa forma, torna-se evidente que elevadas doses desse antibiótico podem ser tóxicas.

Os resultados apresentados são do primeiro estudo na literatura sobre o uso de florfenicol na incubação de ovos de uma espécie neotropical. Outros trabalhos devem ser realizados para o melhor entendimento do mecanismo de ação do florfenicol no metabolismo de ovos e larvas de peixes nativos de água doce. É necessário verificar se as doses obtidas no presente trabalho serão eficientes para controlar ou eliminar

infecções bacterianas em ovos e larvas de pacamã e de outras espécies de peixes neotropicais.

Conclui-se que, na incubação de ovos de pacamã, a dose de florfenicol pode afetar os ovos e larvas, sendo que concentrações de até 309 mg L⁻¹ de florfenicol podem ser empregadas por 24 horas sem afetar as larvas nas fases posteriores.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e à Fundação Universitária Mendes Pimentel (Fump) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pelo apoio financeiro.

Referências

- GAIKOWSKI, M.P.; WOLF, J.C.; SCHLEIS, S.M.; TUOMARI, D.; ENDRIS, R.G. Safety of florfenicol administered in feed to Tilapia (*Oreochromis* sp.). **Toxicologic Pathology**, v.41, p.639-652, 2013. DOI: 10.1177/0192623312463986.
- HANSEN, G.H.; BERGH, O.; MICHAELSEN, J.; KNAPPSKOG, D. *Flexibacter ovolyticus* sp. nov., a pathogen of eggs and larvae of Atlantic Halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.42, p.451-458, 1992. DOI: 10.1099/00207713-42-3-451.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J. da C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3.ed. Maringá: EDUEM, 2008. 264p.

ROIHA, I.S.; OTTERLEI, E.; LITLABØ, A.; SAMUELSEN, O.B. Uptake and elimination of florfenicol in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae delivered orally through bioencapsulation in the brine shrimp *Artemia franciscana*. **Aquaculture**, v.310, p.27-31, 2010. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.10.014.

SCHERING-PLOUGH ANIMAL HEALTH. **Aquaflor**: florfenicol. (Technical monograph for catfish health professionals). 2005. 36p. Available at: <http://www.aquaflor-usa.com/pdfs/Catfish_Brochure.pdf>. Accessed on: 20 Oct. 2013.

SOTO, E.; KIDD, S.; GAUNT, P.S.; ENDRIS, R. Efficacy of florfenicol for control of mortality associated with *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*

(L.). **Journal of Fish Diseases**, v.36, p.411-418, 2013. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2012.01425.x.

SOTO-RODRÍGUEZ, S.; ARMENTA, M.; GOMEZ-GIL, B. Effects of enrofloxacin and florfenicol on survival and bacterial population in an experimental infection with luminescent *Vibrio campbellii* in shrimp larvae of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v.255, p.48-54, 2006. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.11.035.

SUN, Y.-X.; ZHAO, H.-Y.; SHAN, Q.; ZHU, S.; ZENG, D.-P.; LIU, Z.-C. Tissue distribution and elimination of florfenicol in crucian carp (*Carassius auratus cuvieri*) after a single dose intramuscular or oral administration. **Aquaculture**, v.309, p.82-85, 2010. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.09.042.

Recebido em 7 de maio de 2014 e aprovado em 5 de novembro de 2014