



INFLUENCIA DE DIFERENTES FREQUENCIAS ALIMENTARES DO PROBIÓTICO (*Lactobacillus spp.*) NO SISTEMA HEMATO-IMUNOLÓGICO DO LAMBARI DO RABO AMARELO.

INFLUENCE OF DIFFERENT PROBIOTIC FEED FREQUENCIES (*Lactobacillus spp.*) IN THE HEMATO-IMMUNOLOGICAL SYSTEM OF YELLOW LAMBARI.

Autores: Pamela Cristina STOLF; Marina de Oliveira PEREIRA; Julio Cesar RODHERMEL; Emanuel Fernando RODRIGUES; Laura Rafaela DA SILVA; Adolfo JATOBÁ.

Identificação autores: Bolsista PIBIC/CNPq, Medicina Veterinária; Orientador: IFC – Campus Araquari.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos nos parâmetros hematológicos e imunológicos de *Astyanax bimaculatus* alimentados com diferentes frequências na oferta de probiótico. Foram usados um total de 100 animais, foram divididos em 20 caixas e 5 tratamentos: 0% (controle), 25%, 50%, 75% e 100% da oferta de probiótico, em triplicata. Peixes alimentados com 100% de frequência, apresentaram maior número de leucócitos totais, linfócitos e monócitos circulantes que o controle. Trombócitos, eritrócitos e parâmetros hematimétricos e imunológicos não divergiram entre tratamentos. Todos os tratamentos probióticos apresentaram maior contagem de LAB em comparação ao grupo controle. A frequência do fornecimento de probióticos interfere no perfil hematológico.

Palavras-chave: bactérias ácido-lácticas; manejo alimentar; piscicultura.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects on hematological and immunological parameters of *Astyanax bimaculatus* fed with different frequencies in probiotic supply. A total of 100 animals were used, divided into 20 boxes and 5 treatments: 0% (control), 25%, 50%, 75% and 100% of the triplicate probiotic supply. Fish fed at 100% frequency presented higher numbers of total leukocytes, lymphocytes and circulating monocytes than the control. Thrombotic, erythrocyte and hematimetric and immunological parameters did not differ between treatments. All probiotic treatments had a higher LAB count compared to the control group. The frequency of probiotic supply interferes with the hematological profile.

Keywords: lactic acid bacteria; feed management; pisciculture.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O gênero *Astyanax*, conhecido como Lambari, apresentou ascensão de 6,0% entre 2013 e 2014 (IBGE, 2015). Este grupo ocorre naturalmente nos corpos

hídricos brasileiros, sendo de pequeno porte, fácil manejo e rápido crescimento (PORTO-Forest et al., 2010),

Este gênero tem grande adaptabilidade, podendo ser facilmente cultivado em tanques, com o uso de alimentação artificial em todas as fases de vida. Sua tolerância a variações de temperatura contribuem para sua rusticidade em ambientes de cultivo comercial (GARUTTI, 2003), além de suportarem altas densidades de estocagem, acima de seis peixes por litro (JATOBÁ & SILVA, 2015).

No entanto, a intensificação dos sistemas de produção vem sendo associada ao surgimento de enfermidades (COSTA, 2003). Para o tratamento dessas patologias, é comum a utilização de substâncias quimioterápicas, porém, esses fármacos podem causar um efeito residual na carcaça, dificultando sua eliminação do produto final, além de favorecer a pressão de seleção sobre micro-organismos patogênicos no ambiente (CORONEL, 2016).

Sendo assim, mostra-se necessário buscar produtos alternativos e mais sustentáveis para esta atividade, os quais minimizem e/ou substituam o uso dos comumente empregados (quimioterápicos, em especial os antibióticos), tais como os probióticos, que são uma ferramenta profilática viável para a prevenção de enfermidades, sendo benéficos à saúde dos peixes (JATOBÁ et al., 2008; 2011; 2017).

Diversos trabalhos têm demonstrado efeitos benéficos dos probióticos em peixes, porém há pouco estudo sobre a influência da frequência de oferta desse aditivo alimentar no sistema imune dos peixes.

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos nos parâmetros hematológicos e imunológicos de lambaris-do-rabo-amarelo, alimentados com diferentes frequências na oferta do probiótico (*Lactobacillus* spp.) na dieta.

METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Aquicultura do Instituto Federal Catarinense - Campus Araquari (IFC-Araquari).

No laboratório de Aquicultura foram selecionados 100 lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*) com peso médio de 8,0 g e cepa de bactéria ácido-láctica isolada do trato gastrointestinal de lambaris sadios, selecionada e aprovada por testes *in vitro* e *in vivo* (dados não publicados) contra bactérias patogênicas e identificada molecularmente como *Lactobacillus* spp. no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), com número de acesso (CPQBA1168-15 DRM-01).

Os peixes foram distribuídos em 20 caixas de polietileno, 5 peixes por caixa, com capacidade de 22 l úteis, equipadas com filtros canister, sistema de recirculação e temperatura constante. As caixas serão divididas em quatro tratamentos, peixes alimentados com probiótico ofertado em 0%, 25%, 50%, 75% e 100% das alimentações. O preparo das dietas foi realizado de acordo com o protocolo estabelecido por Jatobá et al. (2011).

Os animais foram alimentados quatro vezes ao dia (08:00, 11:00, 13:00 e 16:00 h), sendo ofertado 3% da biomassa, com a ração comercial (GUABI[®], 1,7 mm, 36% proteína bruta e 6,5% extrato etéreo, níveis de garantia do fabricante). A temperatura e oxigênio dissolvido foram mensurados duas vezes ao dia (09:00 e 15:00 h), e semanalmente o pH.

Após 28 dias, todos os peixes foram anestesiados com Eugenol (50mg L⁻¹), cerca de 0,5mL de sangue coletado para confecção extensões (em duplicatas)

sanguíneas coradas com Giemsa/MayGrunwald (Rosenfeld, 1947), para contagem diferencial de leucócitos e contagens totais de trombócitos e leucócitos. Uma alíquota será utilizada para a determinação do hematócrito (Goldenfarbet al., 1971), glicose (Accu-ChekAdvantage 2 Roche) e o restante armazenado em frascos de vidro no gelo para quantificar o número total de eritrócitos em hemocítometro. Os números totais de trombócitos e leucócitos foram obtidos na extensão sanguínea pelo método indireto (Jatobá et al., 2011).

Os dados foram previamente submetidos à análise de Bartlett para verificar a homogeneidade de variância dos dados. Todos os dados foram avaliados por meio da ANOVA, quando observado diferenças significativas foi realizado o teste SNK para separação de médias, todas as análises com um nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Parâmetros hematológicos são importantes indicadores de saúde dos peixes (Silva et al. 2009). Nos lambaris alimentados com 100% de frequência, os números de leucócitos totais, linfócitos e monócitos circulantes, foram maiores do que no tratamento controle (Tab. 1) Esses dados corroboram com Jatobá et al., 2018. Esse aumento no número de células de defesa de animais alimentados com a dieta probiótica, principalmente na maior frequência, sugere que o sistema imunológico do animal esteja mais preparado para enfrentar enfermidades, ou seja, apresenta uma melhor imunocompetência (Jatobá et al., 2015), um achado que está de acordo com Mello et al., 2013, que observou uma sobrevivência maior nos peixes alimentados com o aditivo probiótico.

Trombócitos, eritrócitos e parâmetros hematimétricos e imunológicos não divergiram entre tratamentos (Tab. 1). Essa igualdade em parâmetros hematimétricos e imunológicos indica a provável ausência de estresse e patologias nos animais. Além de boa adaptação destes, ao manejo experimental (Ranzani-Paiva e Silva Souza, 2004).

Tabela 1. Variáveis hematológicas de lambari-de-rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*) alimentadas com probiótico (*Lactobacillus spp.*), Oferecidas em diferentes frequências.

Fornecimento probiótico	0 %	25 %	50 %	75%	100 %
Contagem diferencial e total de leucócitos					
Eritrócitos ($\times 10^6 \mu\text{l}^{-1}$)	2.03 \pm 0.13 ^a	1.85 \pm 0.28 ^a	2.26 \pm 0.36 ^a	2.09 \pm 0.55 ^a	2.26 \pm 0.61 ^a
Leucócitos ($\times 10^3 \mu\text{l}^{-1}$)	27.07 \pm 0.58 ^d	28.59 \pm 1.04 ^d	37.95 \pm 0.88 ^c	42.40 \pm 1.56 ^b	47.70 \pm 0.67 ^a
Trombócitos ($\times 10^3 \mu\text{l}^{-1}$)	7.97 \pm 2.13 ^a	4.47 \pm 0.88 ^b	4.03 \pm 1.13 ^{bc}	3.01 \pm 0.55 ^c	5.12 \pm 2.62 ^{ab}
Linfócitos ($\times 10^3 \mu\text{l}^{-1}$)	22.57 \pm 0.63 ^c	23.22 \pm 0.73 ^c	30.18 \pm 0.54 ^b	31.64 \pm 1.52 ^b	36.11 \pm 0.26 ^a
Monócitos ($\times 10^3 \mu\text{l}^{-1}$)	4.65 \pm 0.97 ^b	5.37 \pm 3.31 ^{ab}	7.77 \pm 1.80 ^{ab}	8.43 \pm 4.64 ^{ab}	11.58 \pm 4.19 ^a
Parâmetros hematimétricos					
Hematocrit (%)	32.60 \pm 1.75 ^a	27.30 \pm 3.64 ^a	34.07 \pm 4.17 ^a	32.43 \pm 3.96 ^a	34.63 \pm 2.25 ^a
¹ Hb (g dl ⁻¹)	7.00 \pm 0.80 ^a	10.90 \pm 0.48 ^a	9.03 \pm 2.66 ^a	9.89 \pm 2.19 ^a	9.03 \pm 0.51 ^a
² MCV (10 ⁻⁵ .pg)	5.40 \pm 2.89 ^a	4.86 \pm 1.74 ^a	4.21 \pm 1.62 ^a	4.77 \pm 6.33 ^a	4.24 \pm 1.08 ^a
³ MCH (10 ⁻⁶ .pg)	3.45 \pm 2.81 ^a	4.37 \pm 1.77 ^a	4.21 \pm 1.62 ^a	4.77 \pm 6.33 ^a	4.24 \pm 1.08 ^a
⁴ MCHC (g dl ⁻¹)	2.99 \pm 0.16 ^a	3.99 \pm 0.85 ^a	4.35 \pm 1.97 ^a	3.38 \pm 0.61 ^a	3.86 \pm 0.47 ^a
Parâmetros imunológicos					
Glucose (mg dl ⁻¹)	138.33 \pm 30.52 ^a	166.86 \pm 26.92 ^a	163.86 \pm 29.27 ^a	145.22 \pm 11.75 ^a	132.00 \pm 14.40 ^a
⁵ TTP (mg ml ⁻¹)	48.04 \pm 6.27 ^a	49.25 \pm 4.15 ^a	44.32 \pm 15.21 ^a	47.64 \pm 10.73 ^a	50.26 \pm 4.93 ^a
⁶ TPI (mg ml ⁻¹)	29.60 \pm 4.00 ^a	34.08 \pm 11.13 ^a	32.75 \pm 8.80 ^a	27.96 \pm 4.62 ^a	32.03 \pm 12.69 ^a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos no teste ANOVA e SNK. Concentração de 1hemoglobina; 2Corpo corpuscular médio = Hematócrito \times 10 / Eritrócito; 3

Hemoglobina corpuscular média = Concentração de hemoglobina \times 10 / Eritrócito; 4 Concentração de hemoglobina corpuscular média = concentração de hemoglobina \times 100 / hematócrito; 5 Proteína Plasmática Total; e 6 imunoglobulina plásmica total.

Todos os tratamentos probióticos apresentaram maior contagem de LAB em comparação ao grupo controle (Fig. 1), dados que corroboram com o estudo de Jatobá et al., 2018, que observou que as dietas suplementadas apresentaram maior LAB em relação ao grupo controle. Além disso, as colônias isoladas apresentaram a mesma morfologia da cepa probiótica oferecida, mesmo as contagens de LAB sendo semelhantes entre os tratamentos probióticos. Com isso, embora as contagens de LAB sejam semelhantes entre os tratamentos, o sistema imune reage diferente em relação à frequência fornecido. As alterações causadas por diferentes cepas podem ser benéficas para o animal, Moraes et al., 2016 encontrou diferenças morfológicas em comprimento, largura e perímetro das vilosidades intestinais de *A. bimaculatus* suplementados em comparação com o grupo não suplementado.

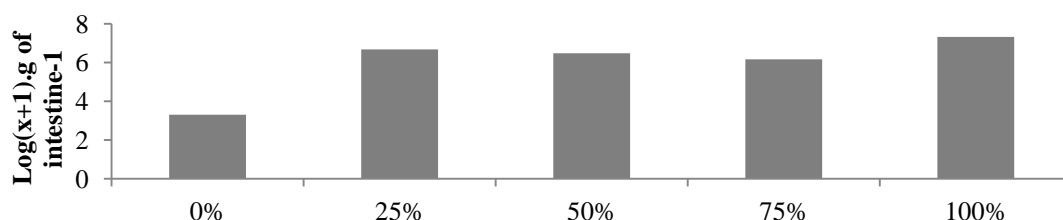


Figura 1. Contagem bacteriana ácida láctica (log UFC mL⁻¹) do trato intestinal de lambari-de-rabo amarelo (*A. bimaculatus*) suplementado com probiótico (*Lactobacillus spp.*), Oferecido em diferentes frequências. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos no teste ANOVA e SNK.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A frequência do fornecimento de probióticos interfere no perfil hematológico, embora probiótico esteja presente nas mesmas concentrações no trato intestinal, independente da frequência de sua oferta, houve um aumento nos leucócitos circulantes, especialmente linfócitos e monócitos, em lambaris alimentados com probióticos com mais frequência.

REFERÊNCIAS

- COSTA, Andréa Belém. Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica. **Piracicaba: Universidade de São Paulo**, 2003.
- GARUTTI, Valdener. **Piscicultura ecológica**. UNESP, 2003.
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas**. 2015. Website: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2013/default_xls_brasil.shtm>
- JATOBÁ, A. et al. Selection of autochtone probiotic for *Astyanax bimaculatus*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 6, p. 1645-1652, 2017.
- JATOBÁ, Adolfo et al. Diet supplemented with probiotic for Nile tilapia in polyculture

system with marine shrimp. **Fish physiology and biochemistry**, v. 37, n. 4, p. 725-732, 2011.

JATOBÁ, Adolfo et al. Lactic-acid bacteria isolated from the intestinal tract of Nile tilapia utilized as probiotic. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1201-1207, 2008.

JATOBÁ, Adolfo; MOURIÑO, José Luís Pedreira. *Lactobacillus plantarum* effect on intestinal tract of *Oreochromis niloticus* fingerlings. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 1, p. 45-53, 2015.

MORAES, Klayton et al. Avaliação histológica do trato intestinal do *Astyanas bimaculatus* alimentado com ração suplementada com probiótico. In: MOSTRA NACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTIFICA E TECNOLÓGICA INTERDISCIPLINAR. 2016.

PORTO-FORESTI, Fabio; CASTILHO-ALMEIDA, R. B.; FORESTI, F. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, v. 2, p. 101-116, 2005.

RANZANI PAIVA, Maria José Tavares et al. Hematologia de peixes brasileiros. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Editora Varela, p. 89-120, 2004.

SILVA, Bruno et al. Resposta hematológica e imunológica de tilápia do Nilo após administração de vacina polivalente por diferentes vias. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.11. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2009001100002&script=sci_arttext >