# BIOQUÍMICA DO SORO DE TILÁPIAS-DO-NILO ALIMENTADAS EM REGIME CONTÍNUO E ALTERNADO COM RAÇÃO SUPLEMENTADA COM O PROBIÓTICO Enterococcus faecium \*

Leonardo TACHIBANA <sup>1</sup>; Guilherme S. TELLI <sup>2</sup>; Edson F. MACHADO <sup>3</sup>;

Danielle de Carla DIAS <sup>4</sup>; Maria José T. RANZANI-PAIVA <sup>1</sup>; Fabio R. SUSSEL <sup>5</sup>

Palavras-chave: Piscicultura; Oreochromis niloticus; imunologia; proteínas totais; albumina; lisozima.

# INTRODUÇÃO

Enterococcus faecium é um probiótico produtor de ácidos e bacteriocinas (HERRANZ et al., 2001) utilizado na produção animal, sendo uma bactéria não patogênica presente no intestino de peixes (RINGO e GATESOUPE, 1998). WANG et al. (2008) avaliaram o efeito da adição da bactéria E. faecium (107 UFC mL-1) na água do cultivo de tilápia, observando que os peixes tratados com o probiótico apresentaram valores de peso final, atividade de mieloperoxidase, "burst" respiratório e fagócitos sanguíneos mais elevados que aqueles exibidos pelos peixes do grupo que não recebeu a bactéria.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar os valores de proteínas totais, albumina e lisozima no soro de tilápias-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, alimentadas em regime contínuo e alternado com ração suplementada com o probiótico *E. faecium*.

# **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento (UPD) de Pirassununga - Polo Regional da APTA Centro-Leste, durante 84 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições. Os peixes foram alimentados com ração: 1 - sem probiótico (controle); 2 - contínua, com ração contendo probiótico; 3 - alternadamente, com ração com e sem probiótico a cada sete dias (P7) e 4 - alternadamente, com ração com e sem probiótico a cada 14 dias (P14).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Pesquisador Científico do Instituto de Pesca. Av. Francisco Matarazzo, 455 - São Paulo - SP - CP: 61070 ; CEP: 05001-970

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Pós-graduando do Instituto de Pesca - APTA - SAA - SP

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Bolsista de Treinamento Técnico FAPESP

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Pós-doutoranda do Instituto de Pesca – APTA – SAA - SP

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Pesquisador Científico da APTA - Polo Centro Leste

<sup>\*</sup> Projeto financiado pela Fapesp, processo 2011/09174-6

Foram utilizadas 640 tilápias-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, estocadas em 16 tanques (40 peixes por tanque) com volume útil de 800 L e com abastecimento contínuo de água e ar. A temperatura média da água foi de 26 °C.

O probiótico (10¹º UFC de *E. faecium* g-¹) foi misturado em óleo de soja (2,0%) e borrifado na ração, na dosagem de 1,0 g kg-¹ de ração. A ração foi fornecida três vezes ao dia até a saciedade. Ao final do período experimental, dois peixes por tanque (n=8) foram anestesiados em benzocaína (100 mg L-¹), e o sangue, coletado por punção do vaso caudal com seringas sem anticoagulante. O soro foi obtido por centrifugação do sangue (2.000xg) durante 10 minutos e mantido a -20 °C.

Foram determinadas as concentrações de: proteínas totais (PT) pelo método do biureto; albumina pelo método do verde de bromocresol (Labtest, MG, BR); e lisozima plasmática (KIM e AUSTIN, 2006 - modificado). Os valores de globulinas foram calculados pela subtração da concentração de albumina daquela da proteína total (PT - albumina).

Os dados foram avaliados por análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Duncan (p<0,05).

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Não foram encontradas diferenças significativas (P<0,05) nos parâmetros avaliados entre os tratamentos que receberam ou não o probiótico, mesmo quando fornecido em regime alternado (Tabela 1).

**Tabela 1**. Valores médios e desvios padrões de proteínas totais (PT), albumina (A), globulina (G), relação albumina/globulina (A/G) e lisozima determinados no soro de tilápias-do-nilo alimentadas em regime contínuo e alternado com ração suplementada com o probiótico *Enterococcus faecium*.

	PT (g dL-1)	A (g dL-1)	G (g dL-1)	A / G	Lisozima (Unidade mL <sup>-1</sup> )
Controle	3,44±0,27	0,68±0,09	2,76±0,18	0,24±0,01	37,1±14,6
Contínuo	3,64±0,40	0,66±0,06	2,98±0,06	0,22±0,04	47,0±17,7
Pulso-7	3,52±0,25	0,74±0,08	2,77±0,18	0,26±0,01	43,1±8,6
Pulso-14	3,35±0,43	0,62±0,10	2,73±0,35	0,22±0,02	37,0±15,5

A utilização de probióticos estimula o sistema imune, alterando a atividade fagocítica e o número de neutrófilos, células "natural killer", imunoglobulinas, dentre outros (NAYAK, 2010).

As proteínas do soro podem ser divididas em dois grandes grupos: as globulinas e as albuminas. A globulina sérica pode ser dividida em três grupos principais:  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  globulina,

que contém todas as imunoglobulinas do sangue (CHOUDHURY et al., 2005). A detecção destas alterações no soro de peixes pode ser verificada pelas análises de proteína total, albumina e globulina (ZHOU et al., 2011). A lisozima é considerada como a primeira barreira contra a invasão bacteriana (SAURABH e SAHOO, 2008). Estudos mostram que a atividade desta enzima pode ser modificada pela adição de probióticos na dieta (ZHOU et al., 2011).

Neste trabalho não se observou alteração significativa dos parâmetros imunológicos avaliados entre os peixes que foram alimentados com ração suplementada com probiótico e sem suplementação (controle). Possivelmente, esta espécie/cepa de probiótico e/ou a quantidade de bactéria utilizada na dieta não foram suficientes para causar modificações destes parâmetros imunológicos.

# **CONCLUSÃO**

A inclusão de 1,0 g kg-1 de *E. faecium* na ração fornecida em regime contínuo e alternado não alterou os parâmetros bioquímicos do soro de tilápias-do-nilo.

# **REFERÊNCIAS**

- CHOUDHURY, D.; PAL, A.K.; SAHU, N.P.; KUMAR, S.; DAS, S.S.; MUKHERJEE, S.C. 2005 Dietary yeast RNA supplementation reduces mortality by *Aeromonas hydrophila* in rohu (*Labeo rohita* L.) juveniles. *Fish Shellfish Immunology*, 19, 281p.
- HERRANZ, C.; CASAUS, P.; MUKHOPADHYAY, S.; MARTÍNEZ, J.M.; RODRÍGUEZ, J.M.; NES, I.F.; HERNÁNDEZ, P.E.; CINTAS, L.M. 2001 *Enterococcus faecium* P21: a strain occurring naturally in dry-fermented sausages producing the class II bacteriocins enterocin A and enterocin B. *Food Microbiol*, 18: 115–131.
- KIM, D.H. e AUSTIN, B. 2006 Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish Shellfish Immunology*, 21: 513-524
- NAYAK, S.K. 2010 Probiotics and immunity: a fish perspective. Fish Shellfish Immunology, 29: 2-14.
- RINGO, E. e GATESOUPE, F.J. 1998 Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture, 160: 177–203.
- SAURABH, S. e SAHOO, P.K. 2008 Lysozyme: an important defense molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 39: 223–239.
- WANG, Y.B.; TIAN, Z.Q.; YAO, J.T.; LI, W.F. 2008 Effect of probiotic faecium on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquacuture*, 277: 203-207.
- ZHOU, X.; WANG, Y.; YAO, J.; LI, W. 2011 Inhibition ability of probiotic, *Lactococcus lactis*, against *A. hydrophila* and study of its immunostimulatory effect in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Engineering, Science and Technology*, 2.