

RECUPERAÇÃO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS ADICIONADAS NA RAÇÃO PARA TILÁPIA*

Pamela Garbim de SOUZA^{1,2}, Luciana Yuri SATO³, Mateus Cardoso GUIMARÃES³, Danielle de Carla DIAS⁴, Camila Aya Tanaka KATO⁵, Sabrina França LOPES⁶, Carlos Massatoshi ISHIKAWA⁴ e Leonardo TACHIBANA⁴

¹ Bolsista TT3 FAPESP Proc.2018/08136-2.

² Endereço/Address: Centro de Pesquisa em Aquicultura – Instituto de Pesca – APTA – SAA. Av Francisco Matarazzo, 455 – Água Branca – São Paulo – SP – Brasil. e-mail: p.garbim@gmail.com.

³ Programa de Pós-graduação do Instituto de PESCA – APTA – SAA

⁴ Pesquisador Científico Instituto de Pesca – APTA – SAA

⁵ Bolsista TT3 FAPESP do Instituto de Pesca – APTA-SAA

⁶ Bolsista IC PIBIC/CNPq do Instituto de Pesca – APTA-SAA

*Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP), processo 2014/15390-1

Palavras-chave: Alimentação; bactérias; peixes; nutrição.

INTRODUÇÃO

A utilização de suplementação probiótica na alimentação de organismos aquáticos tem sido cada vez mais averiguada por proporcionar uma melhoria significativa na saúde dos animais, levando a uma maior eficiência alimentar e no combate a patógenos (GATESOUBE, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2002). As características fundamentais para se obter um produto com eficácia probiótica são: sobrevivência ao sistema gastrointestinal, capacidade de adesão a mucosa intestinal, auxílio na prevenção de doenças, não ser patogênico, provir do organismo de interesse e permanecer viável por longos períodos de estocagem e armazenagem (SAAD, 2006). Neste trabalho, objetivou-se a recuperação microbiológica de bactérias que foram adicionadas na ração.

MATERIAL E METODOS

Foi realizada uma seleção de bactérias oriundas de tilápias de várias pisciculturas ao redor do Brasil e, após a constatação da eficácia em permanecer viável em ambientes ácidos (pH baixo), em contato com sais biliares e estocagem (liofilização e armazenagem), estes microrganismos foram considerados aptos para serem incorporados na ração. Destacaram-se cinco cepas de bactérias diferentes nas concentrações de 1g kg⁻¹ de ração, que foram adicionadas em óleo de soja em constante agitação até a sua dissolução completa, posteriormente pulverizada na ração. As bactérias foram separadas em seis tratamentos

diferentes, obedecendo a ordem de T0 (controle), T1 (espécie 01), T2 (espécie 02), T3 (espécie 03), T4 (espécie 04) e T5 (espécie 05). A cada ração suplementada, foi amostrado 1g de cada tratamento, sendo transferidos para tubos Falcon de 15mL estéreis, contendo PBS e macerados até uma consistência homogênea. Após, foi adicionada Tween 20 à mistura, em constante agitação, durante um período de 5 min. Foi realizada uma diluição seriada até 10^{-5} , a fim de verificar a presença, a diferenciação e a contagem das bactérias. Dessa diluição, retirou-se uma alíquota de 100 μ L e espalhando por toda uma placa de Petri com meio de cultura Tryptic Soy Agar (TSA), em duplicata, com o auxílio de uma alça de Drigalski (Figura 01). As placas foram então incubadas em estufa BOD durante 24 horas, a temperatura de 30°C e posteriormente realizadas leituras visuais contando cada Unidade Formadora de Colônia (UFC).



Figura 01: Placa contendo meio de cultura TSA cultivada com bactéria potencialmente probiótica aprovada na seleção e submetida à contagem

RESULTADO E DISCUSSÃO

Após todo o processo de cultivo e contagem, foram localizadas as cepas com os mesmos padrões de crescimento e morfologia das bactérias de interesse probiótico, anteriormente manipuladas e aprovadas. Elas apresentaram uma concentração entre 10^3 UFC g^{-1} (T5) e 10^6 UFC g^{-1} (T2), corroborando com resultados encontrados por TACHIBANA (2011) que, ao trabalhar com *Bacillus subtilis* na fase de reversão sexual de pós-larvas de tilápias do Nilo, foi recuperada a quantidade de $1,15 \times 10^4$ e $4,74 \times 10^5$ UFC g^{-1} respectivamente. Outro estudo também com foco no processo de reversão sexual realizado por ALBUQUERQUE *et al.* (2013), utilizou concentrações entre $4,46 \times 10^3$ para *Bacillus cereus* e $4,53 \times 10^3$ para *Bacillus subtilis*. A concentração é algo relativo e facilmente encontrados em parâmetros diferentes, como em estudos feitos por MELLO *et al.* (2013) que, ao trabalhar com probiótico comercial, se deparou com concentrações equivalentes a $4,0 \times 10^8$, tanto para *B. cereus* como para *B. subtilis*, testando a resposta proteica da tilápia-do-nilo com a utilização destes agentes.

CONCLUSÃO

O procedimento testado se demonstrou viável para a recuperação e constatação de microrganismos de interesse probiótico. As bactérias serão submetidas à identificação para posterior averiguação e confiabilidade.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, D.M; MARENGONI, N.G; BOSCOLO, W.R; RIBEIRO, R.P; MAHL, I; MOURA, M.C. 2013 Probióticos em dieta para tilapia do Nilo durante reversão sexual. *Ciência Rural*, 43(8): 1503-1508.
- GATESOUBE, F. J. 2007 Live yeasts in the gut: natural occurrence, dietary introduction, and their effects on fish health and development. *Aquaculture*, 267:20-30.
- MELLO, H.; MORAES, J.R.E.; NIZA, I.G.; MORAES, F.R.; OZÓRIO, R.O.A.; SHIMADA, M.T.; ENGRACIA FILHO, J.R.; CLAUDIANO, G.S. 2013 Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-nilo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(6):724-730.
- OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A.; SAAD, S.M.I. 2002 Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 38(1):1-21.
- SAAD, S. 2006 Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42: 1-16.
- TACHIBANA, L.; DIAS, D.C.; ISHIKAWA, C.M.; CORREA, C.F.; LEONARDO, A.F.G.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. 2011 Probiótico na alimentação da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* Lineu, 1758): desempenho zootécnico e recuperação da bactéria probiótica intestinal. *Bioikos*, 25: 25-31.