

## Uso do probiótico Efinol<sup>®</sup>L durante o transporte de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

[*The use of probiotic Efinol<sup>®</sup>L during transportation of tambaqui (Colossoma macropomum)*]

E.S. Carvalho<sup>1</sup>, L.C. Gomes<sup>2,4\*</sup>, F.R. Brandão<sup>1</sup>, R. Crescêncio<sup>3</sup>, E.C. Chagas<sup>3</sup>, A.A.S. Anselmo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de capacitação - Embrapa Amazônia Ocidental – Manaus, AM

<sup>2</sup>Centro Universitário Vila Velha

Rua Comissário José Dantas de Melo, 21

29102-770 – Vila Velha, ES

<sup>3</sup>Embrapa Amazônia Ocidental – Manaus, AM

<sup>4</sup>Bolsista do CNPq

### RESUMO

Verificou-se a eficácia da adição de um probiótico potencialmente redutor de estresse, durante o transporte de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Os peixes foram transportados em sacos plásticos com probiótico (20mg/L) ou sem adição do produto à água. O transporte teve duração de 16 horas. Após o transporte, os peixes foram colocados em caixas de 150L para monitorar a recuperação por 96 horas. Para o monitoramento do estresse, avaliaram-se a glicose, o hematócrito e a hemoglobina, além das características de qualidade da água. Após o transporte, a glicose aumentou significativamente, permaneceu elevada nas amostras por 24 e 48 horas e retornou à concentração inicial, 96 horas depois, em ambos os tratamentos. A hemoglobina não se alterou durante e após o transporte, e o hematócrito aumentou significativamente no tratamento sem probiótico nos tempos 24 e 48 horas após o transporte. O probiótico utilizado não foi eficiente em suprimir as respostas de estresse em tambaqui durante o transporte, porém foi eficiente em suprimir as respostas pós-transporte.

Palavras-chave: tambaqui, transporte, estresse fisiológico

### ABSTRACT

*The effectiveness of the addition of a potentially stress reducing probiotic during transportation of tambaqui juveniles was studied. Fish were transported with (20mg/L) and without probiotic in the water. The transport duration was 16 hours. After transportation, fish were placed in 150L tanks to monitor their recovery for 96-hours. The following stress parameters were evaluated: glucose, hematocrit, and hemoglobin, and also some water quality parameters. The responses of glucose presented similar pattern between the treatments. Glucose concentrations significantly increased after transportation, kept high for 24 and 48-hours after transportation, and returned to control-like concentration at 96-hours after transportation. Hemoglobin did not present significant difference during or after transportation. Hematocrit significantly increased in probiotic-free treatment at 24 and 48 hours after transportation. The stress response in tambaqui was similar between the tested treatments, indicating that the used probiotic was not efficient in suppressing the stress during transportation; however, it was able to mitigate post-transportation stress response.*

Keywords: *tambaqui, transportation, physiological stress*

---

Recebido em 4 de dezembro de 2008

Aceito em 2 de outubro de 2009

\*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: levy.gomes@uvv.br

## INTRODUÇÃO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*), peixe originário da bacia Amazônica, é a espécie nativa mais estudada e sobre a qual se gerou mais conhecimento sobre a criação em cativeiro (Araújo-Lima e Gomes, 2005). Mesmo assim, algumas lacunas ainda precisam ser preenchidas para se ter conhecimento técnico suficiente e estabelecer um pacote tecnológico para a produção dessa espécie na Amazônia. Uma das lacunas a serem elucidadas é o transporte de juvenis (Andrade e Randall, 1999). Isso porque os peixes invariavelmente são expostos a vários fatores estressantes (Adamante et al., 2008), que podem sobrecarregar os sistemas fisiológicos dos animais, levando-os muitas vezes à morte (Barton, 2002).

Probióticos têm sido utilizados para aumentar a resistência e a sobrevivência de peixes e crustáceos em situações adversas como manuseio e manejo (Gatesoupe, 1999; Gomez-Gil et al., 2000). O Efinol®L<sup>1</sup>, produto comercial para ser diluído diretamente na água, é vendido como fórmula antiestresse para a aquicultura. É recomendado para ser utilizado durante o transporte de larvas e juvenis de animais aquáticos a fim de melhorar-lhes a saúde e a sobrevivência. Esse produto é formulado com *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformes*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccaromyces cerevisiae* e aminoácidos, vitaminas e minerais.

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia da adição de um probiótico potencialmente redutor de estresse (Efinol®L), durante o transporte de juvenis de tambaqui, e auxiliar no estabelecimento de um protocolo de transporte seguro para a espécie.

## MATERIAL E MÉTODOS

Juvenis de tambaqui (26,45±8,01g e 9,44±1,75cm), criados por 60 dias em tanques-rede de 1m<sup>3</sup>, foram colocados em 30 sacos plásticos contendo 10 litros de água e oxigênio pressurizado. Os peixes foram transportados com e sem adição de Efinol®L<sup>1</sup> na água (15 sacos de transporte para cada tratamento). No tratamento com probiótico, foi utilizada a concentração de 20mg/L de Efinol®L diluído diretamente na água

do transporte, de acordo com recomendação do fabricante. No tratamento sem probiótico, os peixes foram transportados sem a adição do produto na água. A duração do transporte foi de 16 horas, e a densidade utilizada foi de 105g peixe/L (4 peixes/L), similar à utilizada comercialmente para a espécie.

Após o transporte, seis sacos plásticos, três de cada tratamento, foram amostrados. Os peixes dos 24 sacos restantes foram colocados em 24 caixas (um saco por caixa) com capacidade para 150L de água cada, para avaliar a recuperação em 96 horas após o transporte. A qualidade da água foi monitorada antes e após o transporte, assim como 24 horas após a chegada dos peixes na caixa de recuperação. A temperatura (°C) e o oxigênio dissolvido (mg/L) foram monitorados por meio de um monitor YSI 55. A alcalinidade total (mg/L) e a dureza total (mg/L) foram analisadas por titulação, pH com um pHmetro digital e amônia total (mg/L) pelo método do endofenol (Standard..., 1998).

Os parâmetros sanguíneos para monitoramento do estresse foram avaliados nos seguintes momentos: antes do transporte (AT; controle), ao fim do transporte (DT) e 24, 48 e 96 horas depois do transporte (24DT, 48DT e 96DT). Foram amostrados três sacos de cada tratamento em cada tempo de amostragem, de forma que os peixes de cada saco só fossem amostrados uma vez durante o experimento. As amostras de sangue foram obtidas com os peixes (n=4 por saco, totalizando 12 peixes por tratamento) previamente anestesiados com benzocaína (100mg/L; Gomes et al., 2001), por meio de punção da veia caudal com utilização de seringas heparinizadas.

A concentração de hemoglobina (Hb) foi determinada segundo o método da cianometemoglobina (Kampen e Zijlstra, 1964). Para determinar o hematócrito (Ht), amostras de sangue foram transferidas para tubos de microematócrito heparinizados e centrifugados a 12.000rpm durante 10 minutos, em centrífuga para microematócrito. Os níveis de glicose foram determinados usando um monitor de glicose no sangue<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Bentoli Agrinutrition Inc. - Austin, Texas, EUA.

<sup>2</sup>Advantage TM, Boehringer Mannheim GmbH - Mannheim, Alemanha.

Os resultados foram expressos em média±erro-padrão. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com dois tratamentos (com e sem probiótico) e cinco tempos de amostragem (AT, DT, 24DT, 48DT e 96DT), com três repetições para cada combinação de tratamento e tempo. Os resultados das diferentes análises de qualidade da água e de sangue foram comparados nos diferentes tempos do mesmo tratamento por análise de variância e teste Tukey ( $P<0,05$ ). Também foi verificada a diferença entre os dois tratamentos em um determinado tempo de amostragem pelo teste t de Student ( $P<0,05$ ) (Zar, 1996).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa nos valores de oxigênio, pH e temperatura em nenhum dos tempos de amostragem de um mesmo tratamento e nem entre os tratamentos em um determinado tempo (Tab. 1). Durante o transporte em sacos

plásticos onde o oxigênio é injetado, de início ocorre saturação de oxigênio na água, seguida de diminuição de sua concentração em função da respiração dos peixes (Berka, 1986). Ao final do transporte de longas distâncias (12-24 horas), o oxigênio pode atingir valores críticos, que em casos extremos levam à morte (Gomes et al., 2003b). Neste trabalho, foi observado que as concentrações de oxigênio ao final do transporte não foram problemáticas para o tambaqui, pois estavam dentro da zona de conforto para a espécie (Gomes et al., 2003b).

Os valores de dureza e alcalinidade da água mantiveram-se semelhantes nos dois tratamentos, em todos os tempos de amostragem (Tab. 1). No entanto, nos dois tratamentos, houve aumento dessas características no DT quando comparado ao AT. Os valores de dureza da água da caixa de recuperação no 24DT foram inferiores aos do início do experimento (AT), em ambos os tratamentos.

Tabela 1. Características de qualidade da água (média±erro-padrão) de tambaqui transportado com e sem adição do probiótico Efinol®L na água

Variável	AT	DT	24DT
Oxigênio (mg/L)			
Sem probiótico	4,80±0,17a	8,2±1,75a	6,3±0,35a
Com probiótico	5,18±0,80a	4,3±1,06a	4,08±0,35a
Temperatura (°C)			
Sem probiótico	30,75±0,20a	28,51±0,66a	24,25±0,16a
Com probiótico	29,80±0,04a	23,01±4,24a	24,65±0,26a
pH (unidades)			
Sem probiótico	6,3±0,04a	5,6±0,10a	6,4±0,01a
Com probiótico	6,4±0,02a	5,7±0,15a	6,4±0,05a
Dureza (mgCaCO <sub>3</sub> /L)			
Sem probiótico	22,5±0,73b	44,6±10,6c	7,6±1,96a
Com probiótico	22,0±0,44b	43,0±6,03c	7,6±0,94a
Alcalinidade (mgCaCO <sub>3</sub> /L)			
Sem probiótico	8,00±1,07a	23,54±1,86b	12,10±2,17a
Com probiótico	11,00±0,00a	20,53±2,58b	13,42±2,57a
Amônia total (mg/L)			
Sem probiótico	1,15±0,0a	14,1±0,57b	26,60±10,1c*
Com probiótico	1,82±0,0a	13,6±0,86c	6,74±0,83b

AT: antes do transporte; DT: depois do transporte; 24DT: 24 horas após o transporte, na caixa de recuperação.

Letras minúsculas nos diferentes tempos de amostragem do mesmo tratamento indicam diferença significativa por ANOVA e teste Tukey ( $P<0,05$ ).

\*indica diferença significativa entre os tratamentos em um determinado tempo de amostragem pelo teste t ( $P<0,05$ ).

A concentração de amônia é um dos parâmetros limitantes no transporte de peixes, pois, à medida que os animais ficam mais tempo confinados nos sacos plásticos, sua concentração tende a aumentar (Urbinati e Carneiro, 2004). No tratamento sem probiótico, houve aumento contínuo na concentração de amônia do AT para o 24DT. No tratamento com probiótico, houve aumento significativo da amônia do AT para o DT, porém a concentração de amônia diminuiu significativamente no 24DT quando comparado ao DT. Ao final do transporte (DT), não houve diferença significativa na concentração de amônia entre os tratamentos, porém, no 24DT, os valores de amônia estavam significativamente mais elevados nas caixas do tratamento sem probiótico. A principal razão para a menor excreção de amônia nos peixes do tratamento com probiótico no 24DT é a redução dos dejetos metabólicos, induzida pela ação de bactérias no trato intestinal (Gournier-Chateau et al., 1994).

Em ambos os tratamentos a concentração de glicose aumentou significativamente após o transporte (DT), manteve-se elevada por 24 e 48 horas após o transporte (24DT e 48DT) e retornou ao valor de concentração inicial (igual à do AT) nas amostras de 96 horas após o transporte (96DT; Fig. 1). Nos peixes transportados com probiótico, houve diminuição progressiva nas concentrações de glicose durante a recuperação, sendo a glicose significativamente menor no 48DT quando comparado ao DT. Este padrão de diminuição progressiva não foi observado no tratamento sem probiótico. Não houve diferença significativa entre os tratamentos em nenhum tempo de amostragem. A glicose é um importante indicador para estudos em estresse fisiológico de peixes, por ser responsiva e facilmente realizada (Gomes et al., 2005). Padrões similares aos deste estudo, com elevação da glicose durante o transporte, foram obtidos para tambaquis transportados em sacos plásticos em alta densidade e em caixas com adição constante de oxigênio (Gomes et al., 2003a, b).

Não se observou alteração da concentração de hemoglobina em ambos os tratamentos, em nenhum dos tempos de amostragem (Fig. 1), e não houve diferença significativa entre os tratamentos em nenhum tempo de amostragem. Alterações na concentração de hemoglobina podem evidenciar hemodiluição e hemoconcentração causada por situações estressantes (Houston et al., 1996). A amplitude de variação dos valores de hemoglobina (8,3 a 10,66mg/dL) encontrada é semelhante à verificada para o tambaqui cultivado em sistema de tanque-rede (Chagas et al., 2003).

No tratamento sem probiótico, o hematócrito aumentou significativamente em 24DT e 48DT, quando comparado ao AT. Essa latência nas respostas do hematócrito já havia sido observada por Brandão et al. (2006) durante o processo de transporte de juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*), e a principal explicação é que indicadores hematológicos, como o hematócrito, são mais demorados em sua resposta que indicadores metabólicos como a glicose. Não houve diferença significativa no hematócrito entre os peixes dos dois tratamentos em nenhum tempo de amostragem. O hematócrito dos peixes transportados com probiótico não se alterou durante e após o transporte, demonstrando a eficiência do probiótico em suprimir respostas pós-transporte, como já observado nos resultados de glicose.

As respostas de estresse do tambaqui durante o transporte foram similares entre os tratamentos testados, indicando que o probiótico Efinol®L na concentração de 20mg/L, como indicado pelo fabricante, não foi eficiente em suprimir as respostas de estresse. Porém, houve melhora na qualidade da água dos peixes transportados com probiótico e diminuição nos parâmetros indicadores de estresse durante a fase de recuperação, ao contrário dos peixes transportados sem probiótico, que só se recuperaram 96 horas após o transporte.

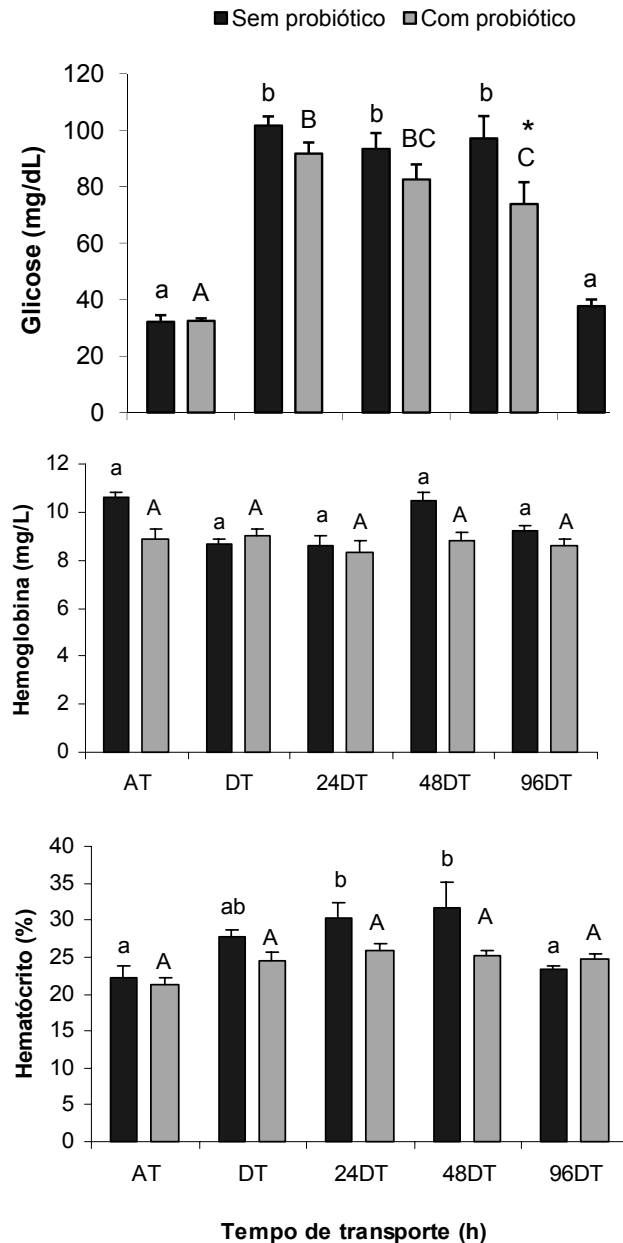


Figura 1. Glicose, hemoglobina e hematócrito (média±erro-padrão) de tambaqui transportado com e sem adição do probiótico Efinol<sup>®</sup>L na água. AT: antes do transporte; DT: depois do transporte; 24DT, 48DT e 96DT: 24, 48, 96 horas após o transporte. Letras minúsculas (tratamento sem probiótico) ou maiúsculas (tratamento com probiótico) nos diferentes tempos de amostragem do mesmo tratamento indicam diferença significativa por ANOVA e teste Tukey (P<0,05).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMANTE, W.B.; NUNER, A.P.O.; BARCELLOS, L.J.G. et al. Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities

and times of transportation. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.755-761, 2008.

ANDRADE, S.M.S.; RANDALL, E.F. Avaliação das condições de manejo e doenças nos cultivos de peixes no Estado do Amazonas. In: LATIN AMERICAN CHAPTER OF THE

- WORLD AQUACULTURE SOCIETY, 3., 1999, Puerto de La Cruz, Venezuela. *Memória del Acuicultura Venezuela 99*. Puerto de la Cruz: World Aquaculture Society, 1999. p.17-20.
- ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L.C. Criação de tambaqui. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Org.). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: UFSM, 2005. p.175-202.
- BARTON, B. Stress in fishes: diversity with particular reference in changes in circulating corticosteroids. *Integr. Comp. Biol.*, v.42, p.517-525, 2002.
- BRANDÃO, F.R.; GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. *Acta Amazon.*, v.36, p.349-356, 2006.
- BERKA, R. *The transport of live fish: a review*. Rome: FAO, 1986. 57p. (EIFAC Technical Papers, 48).
- CHAGAS, E.C.; LOURENÇO, J.N.P.; GOMES, L.C. et al. Desempenho e estado de saúde de tambaquis cultivados em tanques-rede sob diferentes densidades de estocagem. In: URBINATI, E.C.; CYRINO, J.E.P. (Ed.). *Anais do Simpósio Brasileiro de Aquicultura, 12., 2003, Jaboticabal*. Jaboticabal: AQUABIO, 2003. v.2, p.83-93.
- GATESOUBE, F.J. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, v.180, p.147-165, 1999.
- GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R. et al. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.38, p.283-290, 2003a.
- GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R. et al. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). *J. World Aquac. Soc.*, v.34, p.76-84, 2003b.
- GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C.; CRESCÊNCIO, R. et al. Validation of a simple portable instrument for measurement of blood glucose in four amazon fishes. *J. Aquac. Trop.*, v.20, p.101-109, 2005.
- GOMES, L.C.; CHIPARI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P. et al. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*. *J. World Aquac. Soc.*, v.32, p.426-431, 2001.
- GOMEZ-GIL, B.; ROQUE A.; TURNBULL, J.F. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, v.191, p.259-270, 2000.
- GOURNIER-CHATEAU, N.; LARPENT, J.P.; CASTELLANOS, M. et al. *Les probiotiques en alimentation animale et humaine*. Paris: Lavoisier Tec & Doc, 1994. 192p.
- HOUSTON, A.H.; ROBERTS, W.C.; KENNUNGTON, J.A. Hematological response in fish: pronephric and splenic involvements in the goldfish, *Carassius auratus* L. *Fish Physiol. Biochem.*, v.15, p.481-489, 1996.
- KAMPEN, E.J.; ZIJLSTRA, W.G. Erythrocytometric methods and their standardization. *Clin. Chim. Acta*, v.6, p.538-542, 1964.
- STANDARD methods for examination of water and wastewater. New York: American Public Health Association, 1998. 824p.
- URBINATI, E.C.; CARNEIRO, P.C.F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M. et al. *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. São Paulo: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, TecArt, 2004. p.343-386.
- ZAR, J.H. *Biostatistical analysis*. 3.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996. 662p.