

## Probiótico na larvicultura de matrinxã, *Brycon amazonicus*

Danielle de Carla Dias<sup>1\*</sup>, Camila Fernandes Corrêa<sup>2</sup>, Antônio Fernando Gervásio Leonardo<sup>2</sup>, Leonardo Tachibana<sup>3</sup>, Elizabeth Romagosa<sup>3</sup> e Maria José Tavares Ranzani-Paiva<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. <sup>2</sup>Polo Regional de Desenvolvimento Sustentável do Vale do Ribeira, Registro, São Paulo, Brasil. <sup>3</sup>Instituto de Pesca, São Paulo, São Paulo, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: daniellebio2004@yahoo.com.br

**RESUMO.** O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho zootécnico de larvas de matrinxã, *Brycon amazonicus*, alimentadas com probiótico composto de *Bacillus subtilis* bioencapsulado em *Artemia salina*, em diferentes doses. Foram utilizados seis tratamentos, sendo: T<sub>0</sub> = controle (sem adição de probiótico), T<sub>2,5</sub> = 2,5 g de probiótico, T<sub>5,0</sub> = 5,0 g de probiótico, T<sub>7,5</sub> = 7,5 g de probiótico, T<sub>10,0</sub> = 10,0 g de probiótico e T<sub>12,5</sub> = 12,5 g de probiótico por litro de água quando alimentados com *A. salina* (4h antes da alimentação das larvas) e por quilo de ração (comercial pó 40% proteína bruta) na fase seguinte. Os resultados mostraram heterogeneidade em relação ao crescimento, indicando que na fase larval o probiótico não influenciou no canibalismo.

**Palavra-chave:** *Artemia salina*, *Bacillus subtilis*, náuplios.

**ABSTRACT. Probiotic in *Brycon amazonicus* hatchery.** The aim of this study was to evaluate the growth performance of *Brycon amazonicus* larvae fed with probiotic consisting of *Bacillus subtilis*, bioencapsulated in *Artemia salina* at different doses. Six treatments were used: T<sub>0</sub> = control (without probiotic), T<sub>2,5</sub> = 2.5 g, T<sub>5,0</sub> = 5.0 g, T<sub>7,5</sub> = 7.5 g, T<sub>10,0</sub> = 10.0 g and T<sub>12,5</sub> = 12.5 g per liter of probiotic when fed with *A. salina* (4h before feeding the larvae); and per kilogram of feed (commercial powder with 40% crude protein) in the next phase. The results showed heterogeneity with regard to growth, indicating that larvae fed with probiotic had no influence on cannibalism.

**Keywords:** *Artemia salina*, *Bacillus subtilis*, Nauplii.

### Introdução

Nos últimos anos, tem-se intensificado o número de pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de alimentos funcionais, ou seja, que fornecem a nutrição básica que promovem o aumento da eficiência alimentar, taxa de crescimento e melhora da saúde de peixes (OLIVEIRA et al., 2002). Dentre os alimentos funcionais destacam-se os probióticos que são suplementos alimentares compostos de microrganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro, pelo equilíbrio da microbiota intestinal (FULLER, 1989). Schrezenmeir e De Vrese (2001) consideraram que o termo probiótico deveria ser utilizado para designar preparações ou produtos que contêm microrganismos viáveis definidos e em quantidade adequada que altera, por colonização, a microbiota própria das mucosas do sistema do hospedeiro, produzindo efeitos benéficos em sua saúde. Os probióticos, em sua maioria são produtos preparados com *Lactobacillus acidophilus*,

*Streptococcus faecium*, *Bacillus subtilis* e em alguns casos leveduras (GUZMÁN, 1992).

A *Artemia* sp. é um dos alimentos utilizados na larvicultura de peixes marinhos e continentais, sendo sua maior vantagem a praticidade na obtenção de náuplios e metanáuplios, após a eclosão de cistos (LIM et al., 2003). O náuplio é mais eficiente no fornecimento de nutrientes para as larvas de peixes pelas suas maiores reservas endógenas de energia. Por serem filtradores de substâncias adicionadas na água são considerados bioencapsuladores (SORGELOS et al., 2001).

O canibalismo é um comportamento natural das espécies de peixes, mas sua intensidade vai depender de fatores ambientais como, densidade de estocagem e disponibilidade de alimento (KESTEMONT et al., 2003). O matrinxã é predador voraz e logo no início do seu desenvolvimento apresenta alto grau de canibalismo (GOMES et al., 1998). Leonardo et al. (2008) observaram elevada taxa de canibalismo em experimentos com larvas de matrinxã, nos

primeiros dias de vida, atingindo até 60% das larvas. Por causa deste canibalismo, estes autores enfatizaram que o maior crescimento das larvas predadoras é explicado pelo alto valor nutritivo das presas que estas ingeriram e não pelo fato da diminuição da densidade de larvas, o que acaba acentuando ainda mais a predação.

Segundo Senhorini et al. (1998), em estudos na fase larval do matrinxã, o período crítico ocorre no momento da transição do alimento endógeno para o exógeno e este comportamento foi observado nas incubadoras, quando as larvas tinham consumido menos de  $\frac{1}{4}$  da reserva vitelínica e apresentavam apenas 32 a 36h de idade. Neste mesmo estudo, a alimentação inicial das larvas influenciou o crescimento e sobrevivência final da larvicultura. Em outro estudo com larvas de matrinxã mantidas em aquários não foi observado efeito da densidade de estocagem de 1,5 a 13 larvas por litro no crescimento e sobrevivência (CECCARELLI; VOLPATO, 2001).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho zootécnico de larvas de matrinxã, *Brycon amazonicus*, alimentadas com probiótico composto de *Bacillus subtilis* bioencapsulado em *Artemia salina* e suplementado na ração em diferentes doses.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido no laboratório do Polo Regional do Vale do Ribeira – APTA – SAA, em Pariquera-Açu, Estado de São Paulo. Para isso foram utilizadas 24 caixas plásticas com capacidade de 20 L e filtro interno composto de bomba submersa ( $200 \text{ L H}^{-1}$ ) acoplado ao filtro de espuma cilíndrica. Todos os dias foram realizados sifonagens dos resíduos do fundo das caixas e realizada a troca parcial (30%) a cada três dias. A densidade de estocagem foi de 10 larvas  $\text{L}^{-1}$  totalizando 200 larvas por caixa. O probiótico comercial liofilizado foi composto de *Bacillus subtilis* na concentração de  $10^9$  UFC. Foram empregados seis tratamentos, sendo:  $T_0$  = controle (sem adição de probiótico),  $T_{2,5}$  = 2,5 g de probiótico,  $T_{5,0}$  = 5,0 g de probiótico,  $T_{7,5}$  = 7,5 g de probiótico,  $T_{10,0}$  = 10,0 g de probiótico e  $T_{12,5}$  = 12,5 g de probiótico com quatro réplicas simultâneas com período experimental de nove dias.

Inicialmente, o probiótico foi administrado por enriquecimento do alimento vivo (*Artemia salina*). Os cistos de artêmia foram hidratados por 1h em água doce, depois incubados por 24h em água salgada,

com aeração e iluminação constante. Após a eclosão, os náuplios foram separados dos cistos e colocados por 12h em recipientes com água salgada, aeração, emulsão enriquecedora preparada artesanalmente [840 mL de água, 38 g leite em pó (equivalente a 6 g de caseína), 60 mL de óleo de girassol, 60 mL óleo de fígado de bacalhau e 2 g de cloreto de colina] e 4h antes da alimentação as respectivas doses de probióticos foram adicionadas por litro de cultivo, segundo metodologia descrita por Lomba (2001). Os náuplios foram fornecidos para as larvas de matrinxã em cinco alimentações diárias: 8, 11, 14, 17 e 20h, sendo que somente na última alimentação foi fornecido o dobro de náuplios em relação aos demais. Cada aquário recebeu inicialmente 40 mil náuplios de *A. salina* bioencapsulados com o probiótico por dia, com aumento progressivo de até 122 mil náuplios por dia. O controle recebeu apenas *A. salina*.

Após 4h da suplementação dos náuplios com probiótico foi verificado, sob microscopia de luz comum, se estes continham bactérias no trato digestório. O mesmo procedimento foi realizado no grupo controle para verificar se não tinha ocorrido contaminação pelas bactérias probióticas.

Após o período de quatro dias, a alimentação das larvas foi gradativamente substituída por ração comercial farelada (40%PB), com o probiótico (em pó) adicionado nas mesmas doses, mas diretamente sobre a ração farelada e homogeneizada. Foram fornecidos 10% peso vivo de ração por larva, cinco vezes ao dia.

Para determinação dos parâmetros zootécnicos foram realizadas coletas de larvas de matrinxã a cada três dias quando foram aferidos o peso (mg), comprimento total (mm), taxa de crescimento específico (CE (% por dia) =  $100 \times [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial})/\text{dias}]$ ), segundo Jobling (1994). A sobrevivência final das larvas (%) foi calculada a partir da seguinte fórmula:  $S (\%) = (NF/NI) \times 100$  (NI = número inicial de larvas; NF = número final de alevinos), segundo Senhorini et al. (1998). Como não foram encontrados animais mortos nas caixas o canibalismo foi calculado pela seguinte fórmula:  $(NI - NF)/NI \times 100$ .

Também foram avaliados, a cada três dias, os parâmetros físicos e químicos da água das caixas como: pH, temperatura, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey para verificar a diferença entre os tratamentos (ZAR, 1999).

## Resultados e discussão

Os parâmetros físicos e químicos da água de temperatura ( $29,19 \pm 0,02^\circ\text{C}$ ), pH ( $7,98 \pm 0,03$ ), oxigênio dissolvido ( $6,10 \pm 0,15 \text{ mg L}^{-1}$ ) e condutividade elétrica ( $203,13 \pm 3,68 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) entre os tratamentos e ao longo do experimento não apresentaram diferenças que pudessem interferir nos resultados obtidos, pois os mesmos permaneceram dentro do limite estabelecido para conservação da vida aquática (SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

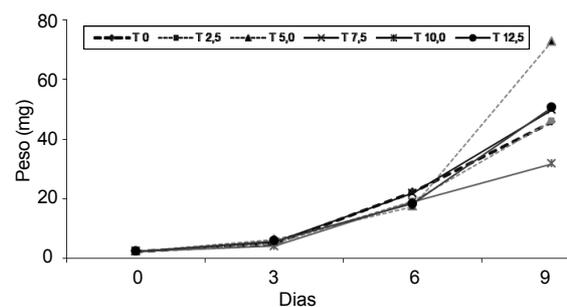
Os valores em ganho de peso obtidos durante o experimento estão apresentados na Tabela 1 e Figura 1, sendo que os mesmos não apresentaram diferenças. Pode-se observar que os peixes do T<sub>5,0</sub> ( $5,0 \text{ g L}^{-1}$  de cultivo de *A. salina* ou  $5,0 \text{ g kg}^{-1}$  de ração) apresentaram médias de peso superiores quando comparado com os animais dos outros tratamentos.

Nesta fase de larvicultura, o matrinxã mostrou heterogeneidade em relação ao crescimento nos diferentes tratamentos e baixa sobrevivência (Tabela 1) evidenciando que a espécie não apresentou bom desempenho em alta densidade de estocagem, quando mantidas em pequenos volumes de água no laboratório.

Segundo GOMES et al. (1998), larvas de matrinxã mantidas em altas densidades de estocagem apresentaram redução de crescimento em experimentos conduzidos em tanques de terra. Pode-se observar que as larvas do T<sub>5,0</sub> ( $5 \text{ g kg}^{-1}$ ) apresentaram maiores pesos finais e ganhos em peso que os peixes do T<sub>10,0</sub>.

O comportamento de canibalismo das larvas foi descrito por Smith e Reay (1991) em 36 famílias de peixes. Trabalhando com larvas de matrinxã, LEONARDO et al. (2008) observaram taxa de canibalismo que variam de 50 a 60%, valores esses inferiores aos encontrados no presente trabalho. Katavic et al. (1989) atribuíram o canibalismo à alimentação inadequada, baixa

frequência alimentar e alta densidade de estocagem.



**Figura 1.** Valores médios de peso das larvas de matrinxã, *Brycon amazonicus* alimentados com probiótico em diferentes doses durante nove dias.

No presente estudo, a alimentação foi adequada na fase inicial de criação sendo ofertada a cada 3h, portanto, é possível descartar estes dois fatores (alimentação inadequada e baixa frequência alimentar) como causadores do alto índice de canibalismo.

A alta densidade de estocagem em caixas provavelmente provocou este elevado índice de canibalismo. Segundo Kestemont et al. (2003), o crescimento heterogêneo inicial induz ao canibalismo em que os peixes maiores predam os menores.

Experimentos realizados com rã-touro, *Rana catesbeiana*, testando dois probióticos comerciais mostraram que os mesmos induziram os melhores índices zootécnicos (DIAS et al., 2008). Em girinos de *Rana catesbeiana*, recém-eclodidos, suplementados com quatro probióticos comerciais, França et al. (2008) observaram maior mortalidade nos animais do controle e com relação ao ganho de peso os diferentes tratamentos não apresentaram diferença.

Diante do exposto, acredita-se que muito ainda tem que ser pesquisado no que trata à larvicultura de espécies de peixes migradores.

**Tabela 1.** Médias e desvios-padrão do peso inicial (Pi), peso final (Pf), comprimento inicial (Ci), comprimento final (Cf), ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE) sobrevivência (%) e canibalismo (%) ao longo do experimento com matrinxã, *B. amazonicus* suplementados com probióticos.

	T <sub>0</sub>	T <sub>2,5</sub>	T <sub>5,0</sub>	T <sub>7,5</sub>	T <sub>10,0</sub>	T <sub>12,5</sub>
Pi (mg)	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19
Pf (mg)	45,79 ± 30,48 <sup>ab</sup>	46,08 ± 33,62 <sup>ab</sup>	72,74 ± 51,68 <sup>a</sup>	49,84 ± 37,09 <sup>ab</sup>	31,70 ± 33,56 <sup>b</sup>	50,56 ± 34,26 <sup>ab</sup>
Ci (mm)	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19	2,37 ± 1,19
Cf (mm)	18,57 ± 1,35	18,87 ± 2,06	19,62 ± 3,64	17,40 ± 1,97	18,13 ± 2,42	17,71 ± 1,64
GP (mg)	43,42 <sup>ab</sup>	43,71 <sup>ab</sup>	70,37 <sup>a</sup>	47,47 <sup>ab</sup>	29,33 <sup>b</sup>	48,19 <sup>ab</sup>
TCE (% dia <sup>-1</sup> )	1,43	1,43	1,65	1,47	1,25	1,48
Sobrevivência	3,61	4,86	3,61	5,28	2,78	4,17
Canibalismo	96,39	95,14	96,39	94,72	97,22	95,83

T<sub>0</sub> - controle (sem adição de probiótico); T<sub>2,5</sub> - 2,5 g de probiótico; T<sub>5,0</sub> - 5,0 g de probiótico; T<sub>7,5</sub> - 7,5 g de probiótico; T<sub>10,0</sub> - 10,0 g de probiótico; T<sub>12,5</sub> - 12,5 g de probiótico; letras diferentes na linha diferem significativamente.

## Conclusão

A suplementação com probiótico na larvicultura de matrinxãs, *B. amazonicus*, não favoreceu o desempenho zootécnico, incluindo a sobrevivência e o canibalismo.

## Agradecimentos

A Marina Carvalho Delbon pelo suporte técnico para realização do experimento.

## Referências

- CECCARELLI, P. S.; VOLPATO, G. L. Efeitos da densidade e proporção de presas consorciadas no crescimento e sobrevivência de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Boletim Técnico do CEPTA**, v. 14, n. 1, p. 1-18, 2001.
- DIAS, D. C.; STEFANI, M. V.; FERREIRA, C. M.; FRANCA, F. M. Uso de probiótico em ração de rã-touro, *Rana catesbeiana*: desempenho produtivo. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, n. 220, p. 449-455, 2008.
- FRANÇA, F. M.; DIAS, D. C.; TEIXEIRA, P. C.; MARCANTÔNIO, A. S.; STÉFANI, M. V.; ANTONUCCI, A.; ROCHA, G. C.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; FERREIRA, C. M. Efeito do probiótico *Bacillus subtilis* no crescimento, sobrevivência e fisiologia de rã-touro (*Rana catesbeiana*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 3, p. 403-412, 2008.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals: a review. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, n. 5, p. 365-378, 1989.
- GOMES, L. C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J. A. Influência da densidade de estocagem na produtividade de larvas do matrinxã *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae) em tanques. **Boletim técnico do CEPTA**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 1998.
- GUZMÁN, G. A. Aplicación de probióticos en la acuicultura. In: SUÁREZ, L. E. C.; MARIE, D. R.; ALFARO, R. M. (Ed.). **Memorias del primer simposium internacional de nutrición acuícola**. San Nicolás de los Garza: Universidade Autónoma de Nuevo León Monterrey, 1992. p. 332-337.
- JOBLING, M. **Fish bionergetics**. London: Chapman e Hall, 1994.
- KATAVIC, I.; JUG-DUJAKOVIC, J.; GLAMUZINA, B. Cannibalism as a factor affecting the survival of intensively culture sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fingerlings. **Aquaculture**, v. 77, n. 2-3, p. 135-143, 1989.

KESTEMONT, P. S.; JOURDAN, M.; HOUBART, C.; MERLARD, M.; PASPATIS, P.; FORTAINE, A.; CUVIER, M.; BARAS, E. Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae, biotic and abiotic influences. **Aquaculture**, v. 227, n. 1-4, p. 333-356, 2003.

LEONARDO, A. F. G.; HOSHIBA, M. A.; SENHORINI, J. A.; URBINATI, E. C. Canibalismo em larvas de matrinxã, *Brycon cephalus*, após imersão dos ovos a diferentes concentrações de triiodotironina (T<sub>3</sub>). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 2, p. 231-239, 2008.

LIM, L. C.; DHERT, P.; SORGELOOS, P. Recent developments in the application of live feeds in the freshwater ornamental fish culture. **Aquaculture**, v. 227, n. 1-4, p. 319-331, 2003.

LOMBA, R. M. P. **Aplicación de bacterias lácticas nos sistemas de cultivo larvário de peixes**. 2001. 74f. Tese (Doutorado em Licenciatura)-Instituto de Investigacións Mariñas, Universidade de Vigo, 2001.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIER, I. K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas**, v. 38, n. 1, p. 1-21, 2002.

SCHREZENMEIR, J.; De VRESE, M. Probiotics, erbiotics and symbyotics-approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 361-364, 2001.

SENHORINI, J. A.; MANTELATTO, F. L. M.; CASANOVA, S. M. C. Growth and survival of larvae of the amazon species "matrinxã", *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae), in larviculture tanks of Brazil. **Boletim Técnico do CEPTA**, v. 11, n. 1, p. 1-79, 1998.

SIPAÚBA-TAVARES, L. C. **Limnologia aplicada à aquicultura**. São Paulo: Unesp, 1995. (Boletim técnico, n. 1).

SMITH, C.; REAY, P. Cannibalism in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 1, n. 1, p. 41-64, 1991.

SORGELOOS, P.; DHERT, P.; CANDREVA, P. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. **Aquaculture**, v. 200, n. 1-2, p. 147-159, 2001.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 3rd. ed. Upper Saddle River: Prentice-Hall, Inc., 1999.

Received on November 23, 2010.

Accepted on March 1, 2011.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.