



Zimmermann
AQUA SOLUTIONS

Possíveis benefícios do muco de tilápias em sistemas de recirculação de camarões marinhos

Sergio Zimmermann

sergio@sergiozimmermann.com e sergio@pligin.com.br



Organismos aquáticos = íntimo contato com o maior veículo de enfermidades

Muco ou Mucosa = secreção da epiderme que combate os microrganismos patogênicos, “**barreira entre o organismo e o meio ambiente**”, primeira barreira **física, química e biológica**, e o primeiro local de interação entre células da pele e agentes patogênicos.

A composição do muco é muito complexa e inclui:

- (1) imunoglobulinas,
- (2) anticorpos aglutinantes,
- (3) lectinas,
- (4) lisinas e
- (5) lisozimas.

Diferentes composições do muco = discriminar entre microrganismos **patogênicos e comensais** (nutrientes) na proteção dos peixes e camarões de patógenos invasores **representando importante porta de entrada** de alguns agentes patogênicos:

- (1) induz o desenvolvimento de biofilmes, e
- (2) representa um micro ambiente favorável para as bactérias, principais agentes causadores de doenças de animais aquáticos.

Adição de tilápias em sistemas de fechados recirculação em cultivos de camarão tem **aumentado consideravelmente a sobrevivência e a resistência a doenças** dos crustáceos.

O **objetivo desta apresentação** é resumir os conhecimentos atuais da:

- (1) interação entre algumas bactérias patogênicas com o muco superficial da tilápia,
- (2) os mecanismos de adesão de agentes patogênicos,
- (3) os principais fatores que influenciam o patógeno na adesão ao muco, e
- (4) demonstrar um caso na Tailândia onde a adição de tilápia beneficiou o cultivo de camarões num sistema fechado de recirculação.

Também discutiremos uma novas teorias, especialmente da participação da **alga *Chlorella*** ao que atualmente se atribui ao papel do muco ou mucosa da tilápia na defesa dos camarões.

O que é o muco?

É uma defesa mecânica e química não específica contra as alterações ambientais e quaisquer agentes patogênicos. É diferente em suas naturezas física e química, e, quantitativamente, a produção de muco também é única para cada espécie aquática (Iq & Shu-Chien, 2011).

Existem **vários tipos**:

- (1) oral,
- (2) branquial/pleural,
- (3) nos ovos,
- (4) no anus, e
- (5) externo.**

O que é o muco?

As **principais funções** do muco externo são:

- (1) proteção mecânica,
- (2) regulação osmótica e
- (3) barreira contra a colonização de parasitas, fungos e bactérias.

As mucosas contém **várias proporções de substâncias**, tais como:

- (1) imunoglobulinas (Rombourt et al, 1995),
- (2) lisozimas (Fletcher and White, 1973),
- (3) proteínas C-reativas (CRP) (Ramos e Smith, 1978) e
- (4) lectinas (Suzuki, 1995).

O principal componente do muco é **glicoproteína** produzida pelas células caliciformes (em forma de cálice) ou células mucosas (Pickering, 1974). A glicoproteína das várias mucosas existentes vai depender da espécie de peixe ou do camarão em questão (Asakawa, 1970).

Os mucos da tilápia e dos camarões estão envolvidos em outra série de atividades biológicas:

- (1) anti-infecção,
- (2) respiração,
- (3) comunicação,
- (4) construção do ninho e até no cuidado e nutrição/defesa parental das larvas e PL's (pelo menos nos primeiros momentos pós-eclosão).

Em relação ao **cuidado maternal**, as secreções de muco facilitam:

- (1) a lubrificação de ovos,
- (2) capturam pequenas partículas de alimentos,
- (3) fornecem defesa contra patógenos e
- (4) tamponamento do pH para as primeiras digestões das larvas recém eclodidas.

No entanto, os benefícios diretos dos mucos parentais em relação à prole continuam por ser melhor elucidados.

Existem **adaptações fisiológicas e bioquímicas** que permitem modificar a concentração de várias substâncias das mucosas, incluindo **mucinas e glicoproteínas**.

Muco e a rusticidade/adaptabilidade no meio aquático

Tilápias são as espécies mais adaptáveis e resistentes ao intenso manejo e às rápidas mudanças ambientais.

- (1) situações de estresse,
- (2) manejos de seleção, vacinação,
- (3) biometrias,
- (4) despesca,
- (5) entrada de frentes frias e
- (6) outras rápidas modificações na qualidade de água ou meio ambiente em geral.

As tilapias podem produzir um **grande volume de muco em curto espaço de tempo**, aumentando suas chances de se recuperarem com maior facilidade, e quem sabe também a sua reconhecida enorme **plasticidade ou capacidade adaptativa, resiste muito bem a ambientes desfavoráveis**.

Muco e a rusticidade/adaptabilidade no meio aquático

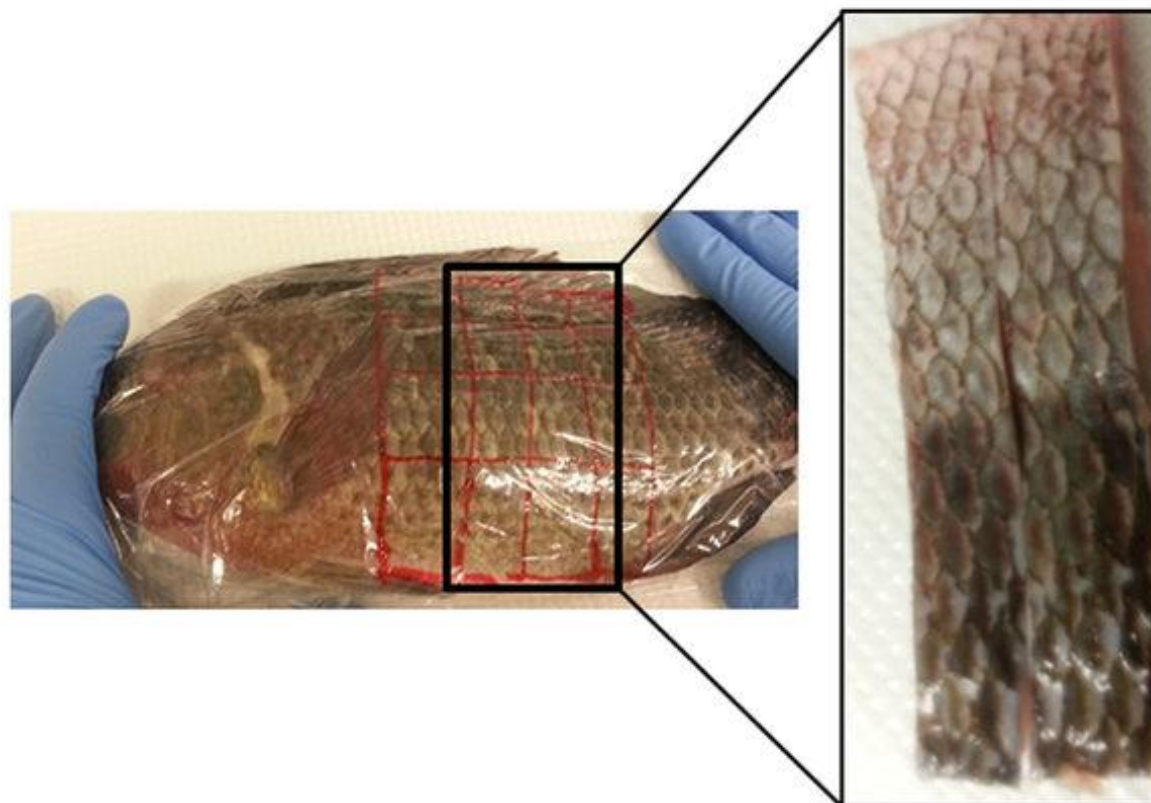
Características de **rusticidade/adaptabilidade** das Tilápias

- (1) sobrevive em águas com muito pouco oxigênio,
- (2) pHs extremos,
- (3) diversas salinidades ou
- (4) conteúdos de argila e matéria orgânica.

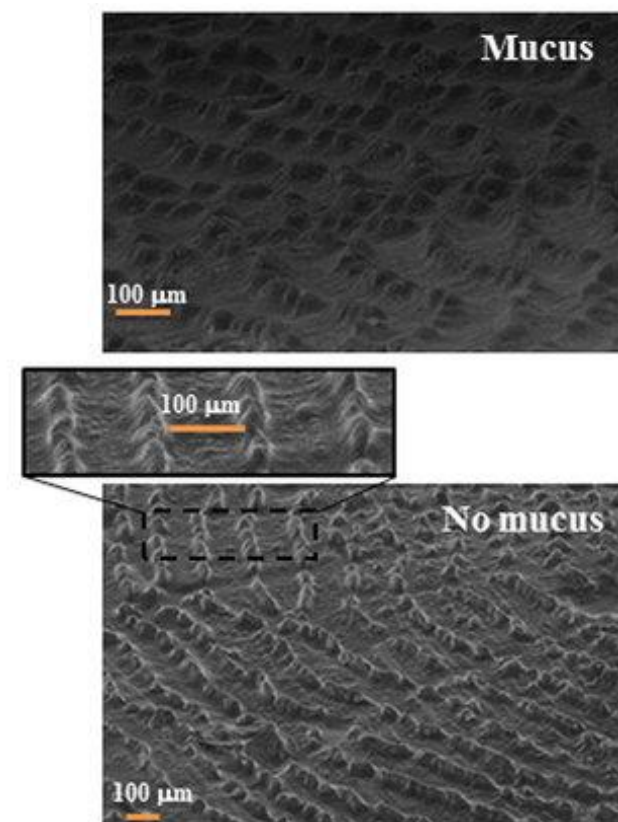
Distribuição das células caliciformes em locais estratégicos de trocas com o meio:

- (1) células palatais;
- (2) lamelas das brânquias;
- (3) esôfago; e
- (4) pele.

Talvez não seja exagerado atribuir à concentração maior das células caliciformes em tilápias como sendo a responsável pela suas características de **rusticidade e adaptabilidade (e enorme produção de muco)**.



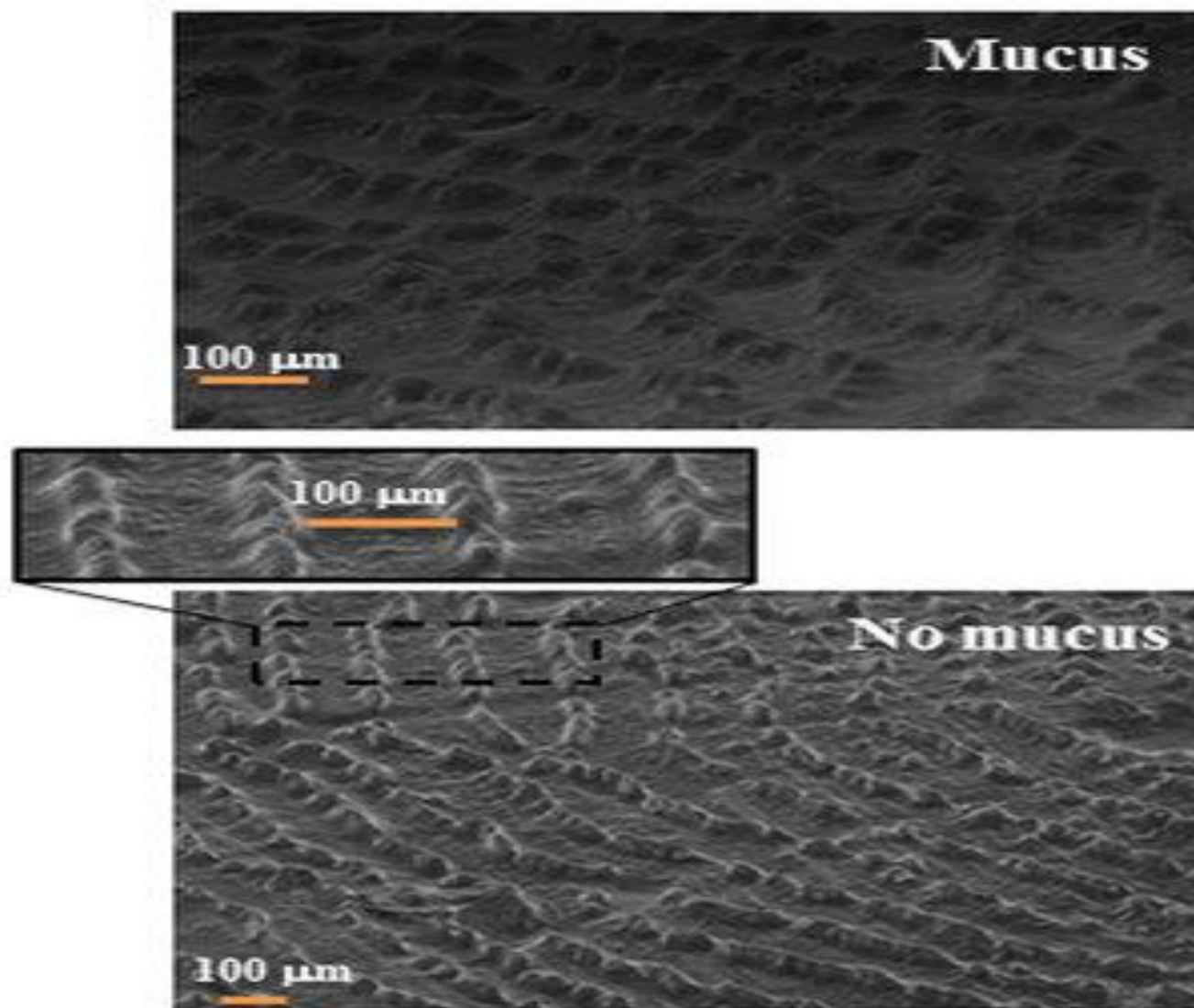
(a)



(b)

Figura 1: Foto de tilápia com e sem muco

Fonte: Prashant et al. (2014)



(b)

Figura 1: Foto de tilápia com e sem muco

Fonte: Prashant et al. (2014)

E quando o muco falha?

- muco é eficiente quando está presente em quantidades suficientes.
- Em determinadas circunstancias, pode servir como nutriente ou meio de cultivo para a disseminação determinadas bactérias patogênicas.

Caso mais reportado na literatura:

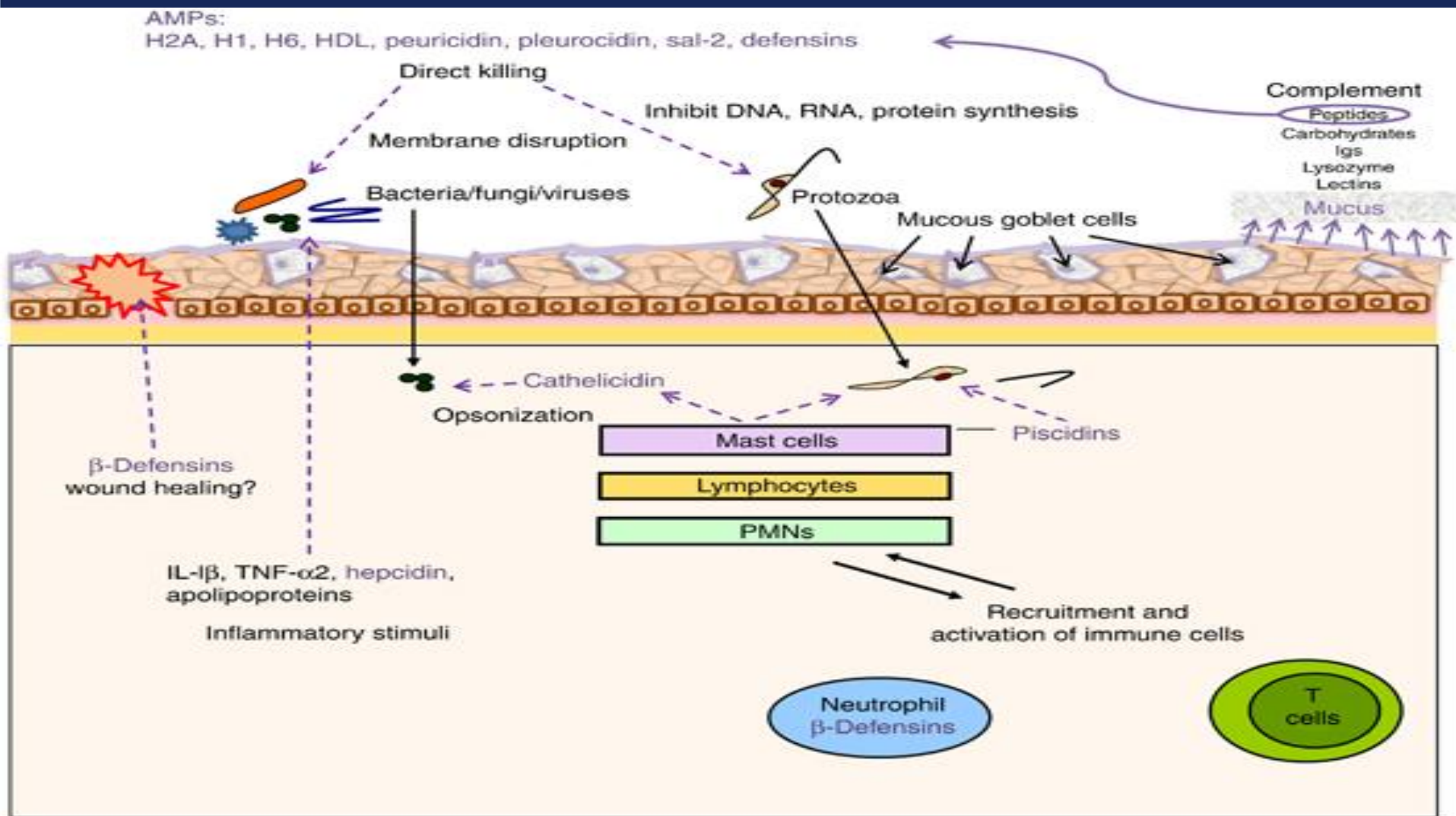
- bactéria patogênica *Flavobacterium columnare* (Declercq et al., 2013),
- Doença da columnariose.

E quando o muco falha?

Diversos estudos demonstram que a *F. columnare* não só sobrevive, mas se multiplica em mucos de tilápia (Shoemaker & LaFrentz, 2015).

Sugestão: o muco deve ser **fonte de nutrientes** para a bactérias **patogênicas** quando está em quantidades insuficientes ou inadequadas (sistema imunológico do peixe enfraquecido, direcionando os recursos para urgências maiores que as células caliciformes).

“Tudo é veneno, nada é veneno... Depende da dose”



Fonte: Modificado após Rakers et al. (2010), mec. de defesa antimicrobiano do muco em tilápias.

Quando um dano mecânico ou químico ocorre, por exemplo, por meio de bactérias, vírus ou outros agentes patogénicos, as **células epiteliais** começam a libertar **citocinas** tais como a IL-1, que sugere atrair fagócitos/neutrófilos, células T e células B para as partes superficiais da epiderme.

Ao mesmo tempo, as **células caliciformes** começam a **segregar muco** (peptídeos, hidratos de carbono, imunoglobulinas, lisozimas e proteases, hidratos de carbono e lectinas).

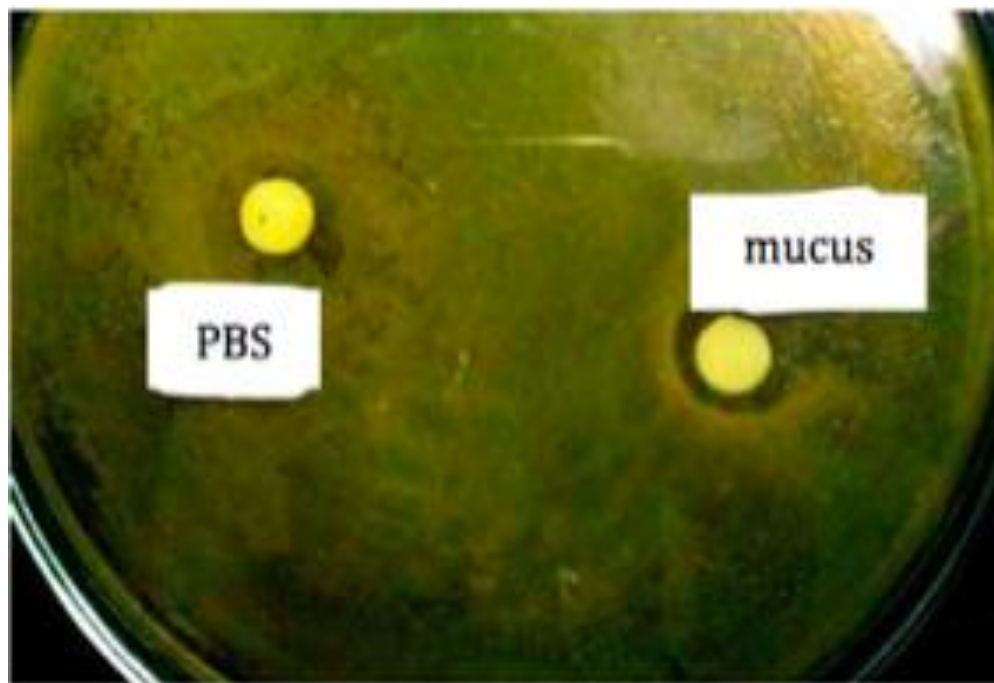
As **imunoglobulinas complementam** o processo, que conduz a opsonização dos agentes patogénicos. Peptídeos antimicrobianos como a IL 1 β ou Hecidina, estão envolvidos na resposta imunológica às bactérias, enquanto que os neuropeptídeos como Corticosterol ou serotonina afetam a libertação de muco.

- muco de Tilápias e possíveis interações com camarões em cultivo

De acordo com Wibowo et al. (2015), uma forma prática de prevenir a **multiplicação dos *Vibrio* spp. luminosos** que produzem toxinas patogênicas em cultivos de camarões é adicionar a **tilápia em policultivo**.

Primeira vez notado na década de 2000 no Sudeste Asiático.

Em laboratório, em cultivo de placas (*in vitro*), os peptídeos antibacterianos do muco de tilápia inibem o crescimento de *V. Harveyi*.



Observação pessoal: Manit Farms, Tailândia

2003 - reestruturação da larvicultura de tilápias
Manit Farm em Pechaburi, Tailândia.

Qualidade de água péssima, canais com excesso de nutrientes e matéria orgânica, eutrofizados.

Organizei a **intensificação da larvicultura** com a concentração dos animais em tanques de concreto (coleta de ovos e de reversão) e a movimentação e recirculação de água passou a ser feita através dos antigos viveiros transformados em recirculadores ou “pulmões”.



Manit Farm



Recirculadores da Maniit Farms - Tailandia



มานิตฟาร์ม



Manit Farm



Imagery Date: Dec 18, 2009

© 2012 Tele Atlas
© 2012 Mapabc.com
Image © 2012 DigitalGlobe
13°11'52.60" N 99°52'15.49" E elev 1 m

© 2010 Google
Eyealt 5

3 Tipos de Bacterias (Anaerobicas, Facultativas, Probioticos)



มานิตย์ฟาร์ม



Manit Farm



Imagery Date: Dec 18, 2009

Image © 2012 Tele Atlas
© 2012 Mapabc.com
Image © 2012 DigitalGlobe
13°11'52.60" N 99°52'15.49" E elev 1 m

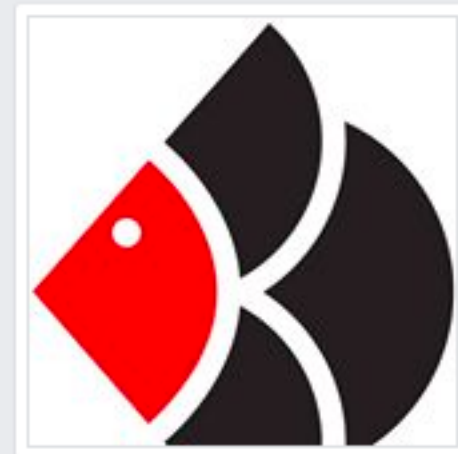
©2010 Google
Elevall 5



Larvicultura existe e fazenda de camarões CP do mesmo grupo, que, igualmente, apresentava os mesmos problemas de qualidade de água.

2005 – Programa de melhoramento de Tilapias da Manit, novo setor de produção futuros reprodutores comerciais junto à área dos camarões e **novo sistema de recirculação de baixa salinidade** (3-5 ppt) que era também utilizado pelos viveiros da área de produção de reprodutores de tilápia.

2006 - mortalidades de camarões, registradas de tempos em tempos em praticamente toda fazenda, **não estavam mais ocorrendo** nos tanques do novo recirculador com água de tilápias.



Manit Farm





MANIT FARM

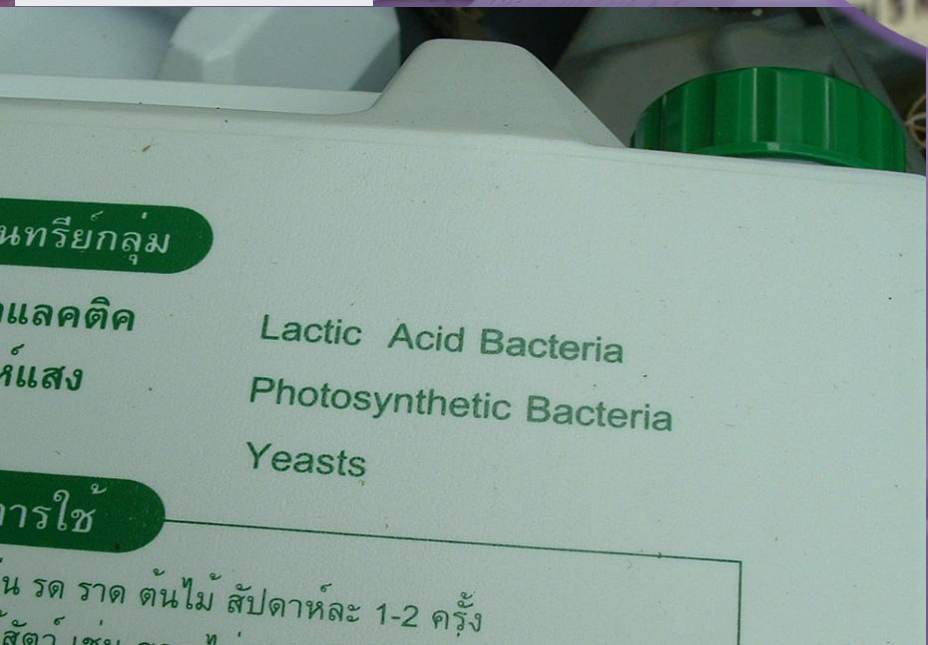
มานิตย์ฟาร์ม



Manit Farm



Zimmermann
AQUA SOLUTIONS





Na Tailandia, são usados tres tipos de biorremediadores/bacterias principais:

- 1. Anóxicas**
- 2. Aerobicas**
- 3. Probioticos**



3 Tipos de Bacterias (Anaerobicas, Facultativas, Probioticos)



Com o passar dos anos, a fazenda de camarões foi atingida por:

- (1) em 2006, a White Spot Syndrome – WSSV,
- (2) em 2008 o Yellow Head Virus Type-I – YHV-1,
- (3) em 2010 a Síndrome de Taura (TSV) e
- (4) em 2012 a EMS (Early Mortality Syndrome) ou Doença da Necrose Hepatopancreática Aguda (AHPND) = principal enfermidade não-viral.

Em todas as ocasiões, os camarões de viveiros conectados às tilápias apresentaram mortalidades muito pequenas comparados aos demais. Tilápias passaram a ser estocadas em todos os recirculadores de camarões.

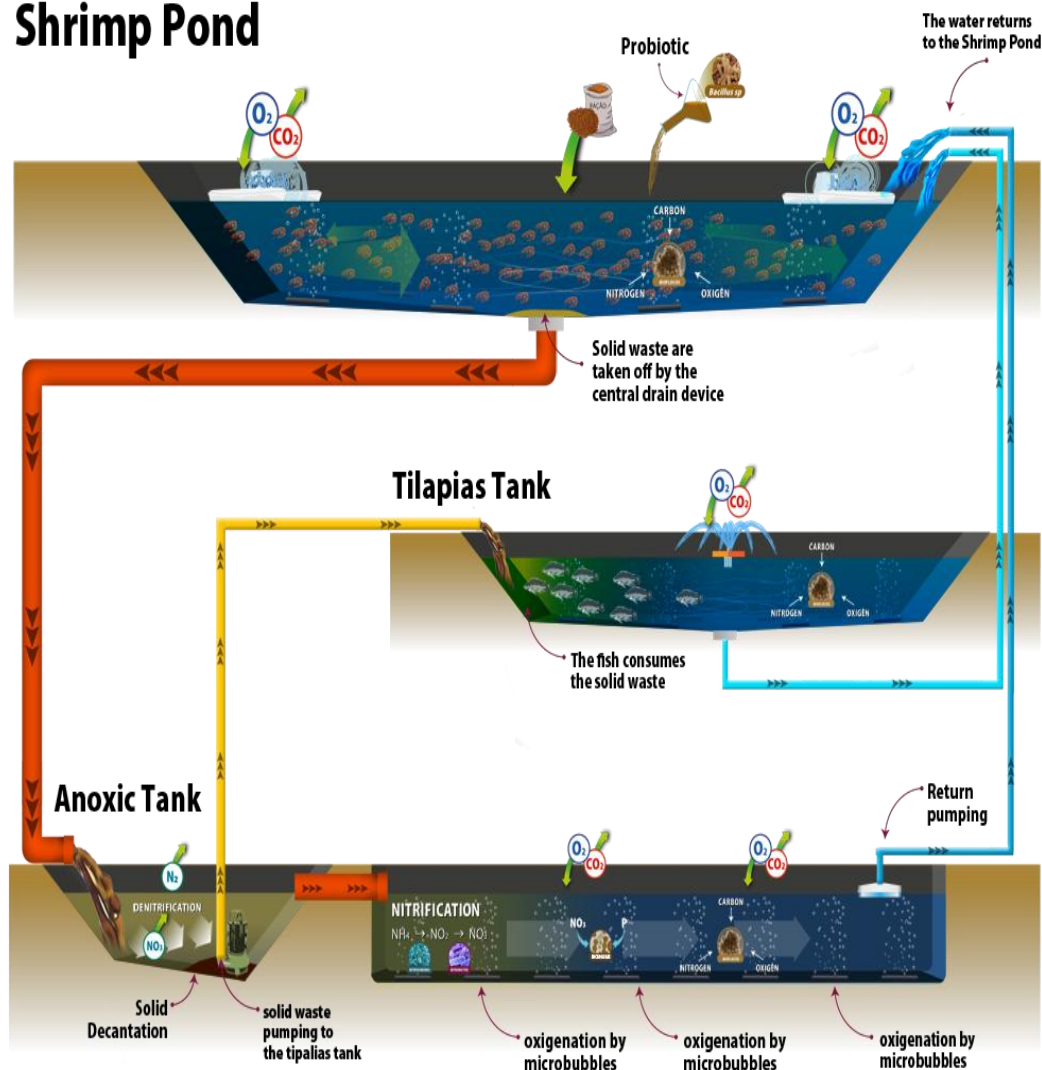
Mais recentemente, o microsporidio *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) é o desafio para este sistema de consórcio.

A pergunta que fica é: **seria o muco das tilápias um fortalecedor do sistema imunológico dos camarões?**

Ou quem sabe os remediadores ambientais?

Ou quem sabe as Chlorifíceas?

Shrimp Pond



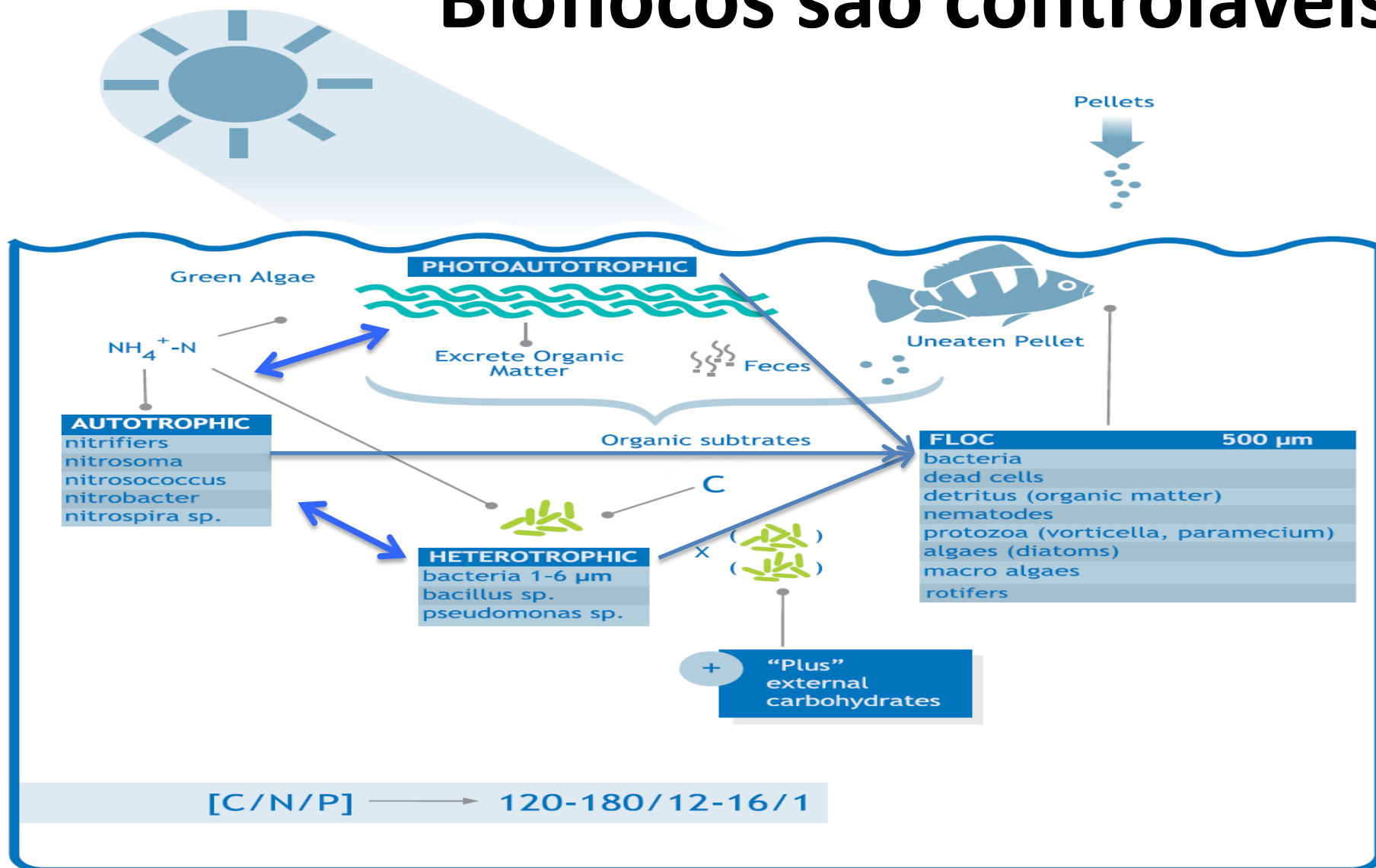
**CAMANOR
A PARTIR
DE 2013**

Policultivo/Integração - Camarão/Tilápia



Não é novidade... Foto de 20 anos atrás

Bioflocos são controláveis



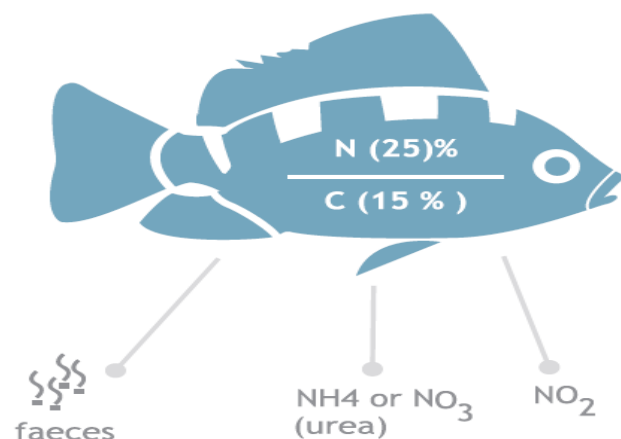
Protein Converting Ratio (PCR)

(1 Kg protein in the fish need x protein in the feed)

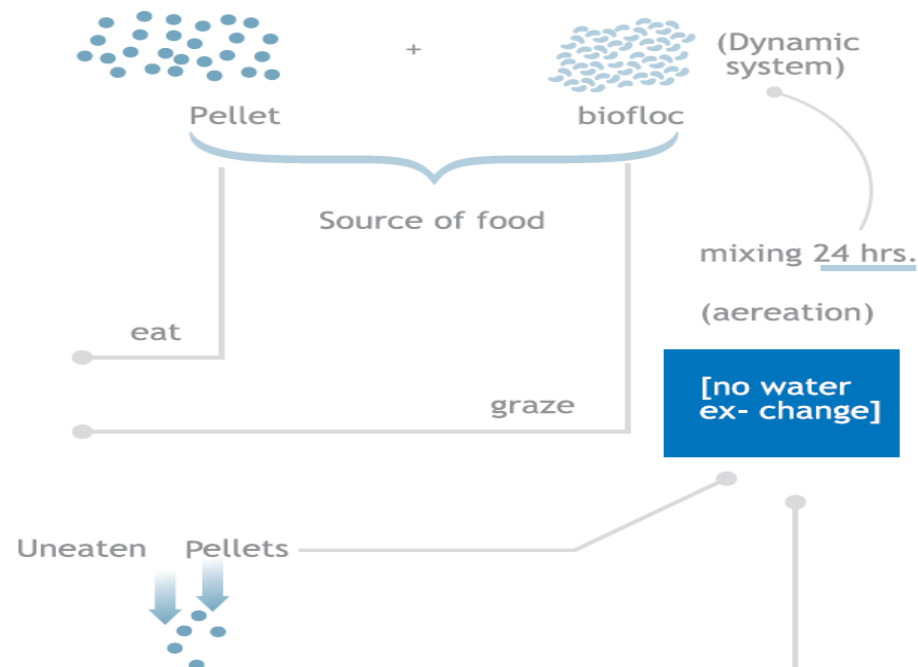
Traditional Ponds: 4

Photobioreactor : 2 (PBR)

Bioflocos são sustentáveis



(75 %) TAN (total ammonia nitrogen + CO₂)



Nitrate - Nitrogen (mg/L)

Bacteria heterotrophic

•Nitrogen uptake
microbial protein

Bacteria autotrophic

Nitrifier or chemoautotrophic
•Nitrogen cycling

Algae fitoplancton

•Nitrogen uptake

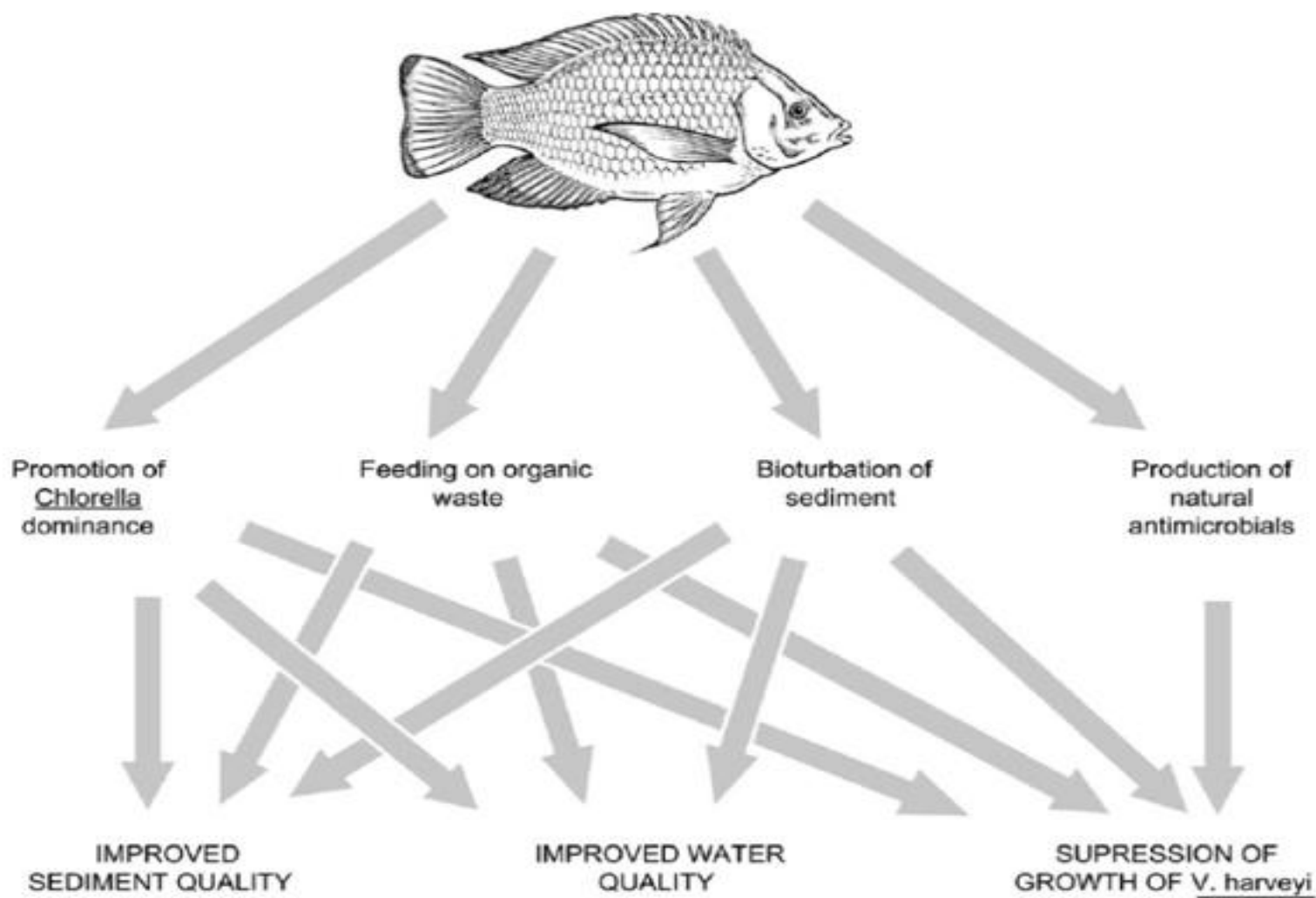


Figura 3: Rotas do uso da Tilapia em Cultivos de Camarão.

Fonte: Cruz et al. (2008)

Dez processos/rotas de Cruz et al. (2008):

- tilápia **promove a dominância de algas verdes** (família Chlorophyceae, **sobretudo do gênero Chlorella**),
- se alimenta removendo parte considerável da matéria orgânica do sistema,
- movimenta os sedimentos do fundo e suprime com seu muco o *Vibrio* luminescente, desta forma melhorando da qualidade da água e do solo.

Destes factores, apenas os efeitos inibitórios da *Chlorella* e do muco de tilápia sobre os *Vibrio* têm sido estudados. **Ambos com efeitos anti-microbianos fortes** nos *Vibrio* patogênicos em condições de laboratório.

- A *Chlorella* predomina nos cultivos (tanques) com tilápias,
- está suspensa livremente na coluna de água e grandes quantidades destes algas verdes acabam sendo transferidas para os tanques com camarões durante as trocas da água.
- A introdução regular de águas ricas em *Chlorella* dilui as concentrações de *Vibrio* e metabolitos de resíduos orgânicos (por exemplo, amônia) e concentra plânctons desejáveis.

Isso favorece o frorescimento de mais *Chlorellas* na água dos camarões, **permitindo domínio e supressão** de mais *Vibrios* com a melhoria da qualidade da água.

- A *Chlorella* acaba se tornando a **espécie mais dominante** também nos cultivos integrados de tilápias e camarões em bioflocos autotróficos, variando de 70 a 95% da população total do fitoplâncton.

Espécies benéficas = 17 (dentre as quais *Cyclotella*, *Oocystis*, *Coscinodiscus*, *Chaetoceros* e *Gramatophora*)

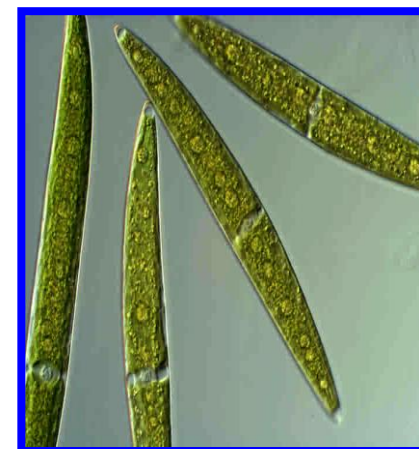
Espécies não benéficas = 18 (destacando-se *Nitzschia* - irritante de brânquias -, *Scenedesmus*, *Trichodesmium*, *Oscillatoria*, *Anabaena*, e dinoflagelados).

- *Chlorella* - fonte valiosa de proteínas e aminoácidos essenciais,
- exibindo um espectro notável de propriedades fisiológicas como um anti-gliceroglicolípideo controlador de tumores, aumentando as defesas do hospedeiro contra as infecções bacterianas (Rosa et al 2005).

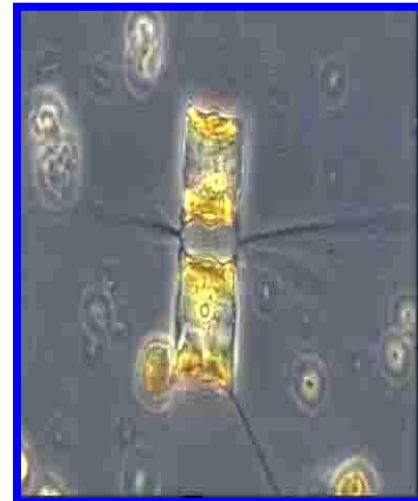
A substância lipofílica chamado chlorellin também tem sido relatada como tendo propriedades anti-bacterianas fortes (Naviner et al., 1999).

do Valor Nutritivo das Algas

- Principais vantagens de sistemas produtivos baseados em algas são seus valores nutritivos:
 - Proteína;
 - HUFAs;
 - Carotenoides & outros pigmentos



do Valor Nutritivo das Algas = Qualidade



Conclusões:

Os componentes de elevado peso molecular da proteína do muco da Tilapia:

- imunoglobulinas,
- lectinas,
- proteína C-reativa,
- protease e
- Lisozimas

= **efeitos anti-bacterianos**, inibindo o desenvolvimento de diversos patógenos de camarões.

Quanto maior a biomassa de tilápias no sistema, menor será o número de *Vibrio* spp. Recomenda-se manter **biomassas de tilápias acima de 800 gramas/m³** para gerar muco (ou induzir a presença de *Chlorellas*) o suficiente para manter os camarões saudáveis (Wibowo et al. 2015)

Conclusões:

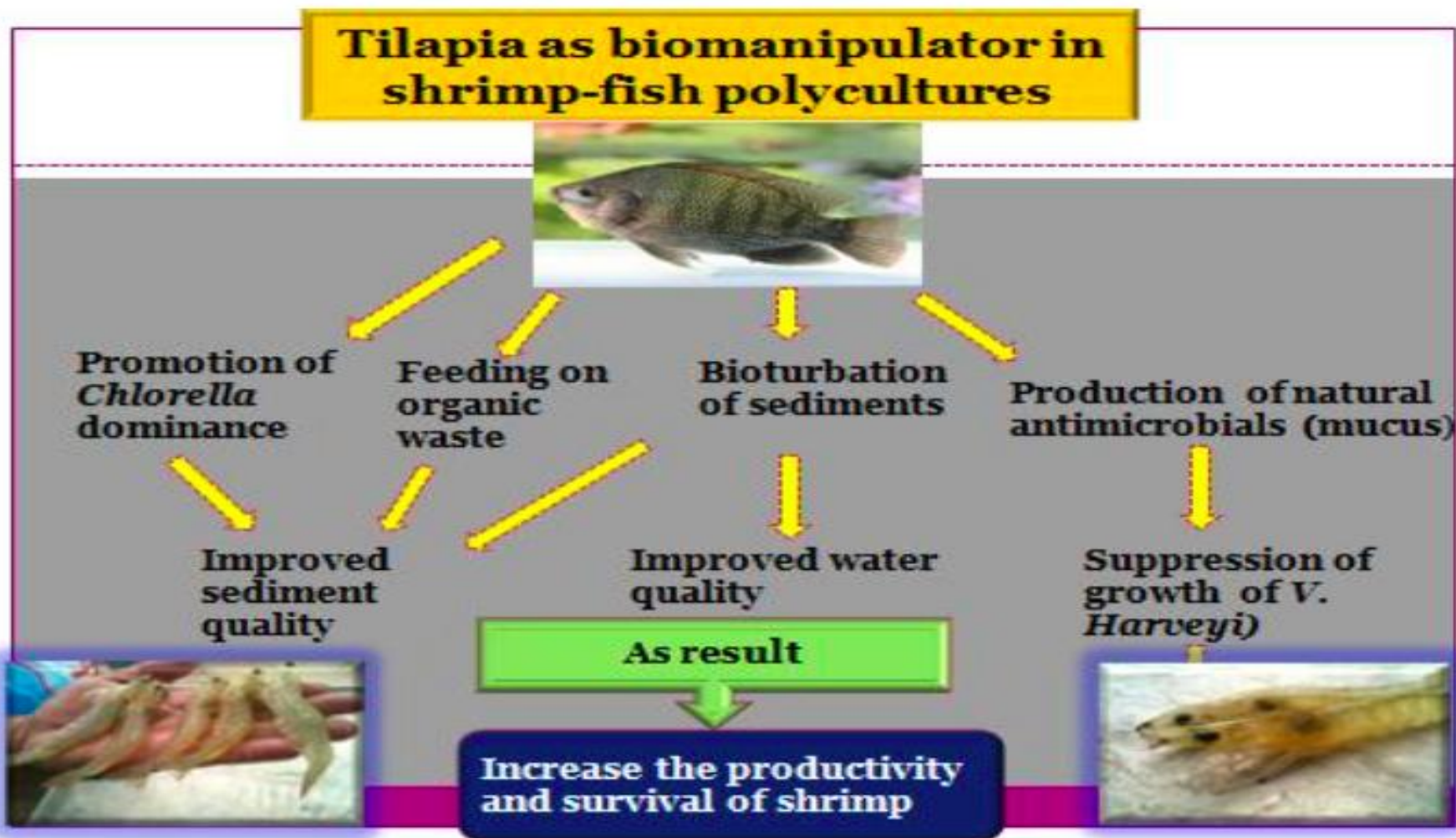
O quanto o muco da pele tilápia afeta os camarões ainda não foi cientificamente investigado e muito menos provado.

As substancias antimicrobianas do muco já foram demonstradas em vários estudos laboratoriais e podem ser detectadas na coluna de água dos camarões nesses recirculadores comerciais (Tendencia e DelaPena, 2003; Tendencia et al 2004).

Mas a questão é, se de fato os fatores bactericidas do muco agem no cultivo, a lógica é que também podem afetar negativamente as bactérias biorremediadoras (benéficas). Como isso não acontece, apesar dos estudos laboratoriais mostrando os efeitos positivos do muco, talvez a campo o “**Efeito Chlorella**” seja preponderante nesse controle de *Vibrios* (Cruz et al., 2008).

Conclusões:

Figure 0.1 Pathways in the use of tilapia as biomanipulator in shrimp farms



Conclusões:



Projeto social retalado por Jorge Chaves em Guayaquil



Conclusões:



Cultivo com Chlorococcum se mantém com 6 milhões/mL, Quando chega a 9 milhões/mL o Vannamei para de crescer.

Adição de 10 mg/L de Cal Hidratada diminui o bloom das Chlorificaceas.

**Controlar crescimento de algas
x alcalinidade do sistema...
2 ppt, zero melaço...**

KW#1				KW#2				KW#3				KW#4			
FECHA	R_x/y	Pressure	Baromet	Altitude Density	R_x/cy	Altitude Density	dim	pm	dim	pm	dim	pm	dim	pm	
2/08/2016	252	19.820	78.7	19.66	2.46	19.66			7.2	289			7.8	0	
3/08/2016	243	19.780	81.4	20.35	2.54	40.01	7.3	6.9	28.1	29.2			7.9	8.5 0.001 0	
4/08/2016	235	19.741	84.0	21.00	2.63	61.01	7.4	7.0	28.2	29.3			8.4	8.6 0.001 0.300	
5/08/2016	215	19.701	91.6	21.99	2.15	63.34	7.1	1.4	28.3	29.1			8.5	8.6 0.000 0.300	
6/08/2016	180	19.662	109.2	26.22	3.28	69.21	7.2	6.9	28.4	29.3			8.4	8.5 0.000 0.100	
7/08/2016	142	19.623	138.2	33.16	4.15	81.37	7.0	1.1	28.3	29.3			8.3	8.3 0.140 1.150	
8/08/2016	112	19.583	144.9	40.22	5.03	99.60	7.3	6.9	28.3	29.3			8.3	8.4 0.140 0.150	
9/08/2016	33	19.544	210.2	48.34	6.04	121.32	7.4	7.2	28.4	29.4			8.3	8.4 0.200 0.200	
10/08/2016	72	19.505	240.9	62.31	7.49	150.86	7.3	6.8	28.3	29.5			8.3	8.5 0.200 0.100	
11/08/2016	58	19.466	335.6	73.84	9.23	184.48	7.1	6.8	29.3	29.5			8.3	8.4 0.300 0.300	
12/08/2016	49	19.427	395.5	87.22	10.90	223.37	7.3	7.2	28.3	28.2			8.3	8.4 0.150 0.200	
13/08/2016	40	19.388	484.7	106.64	13.33	267.77	7.4	7.3	27.5	28.2			8.3	8.4 0.250 0.150	
14/08/2016	34	19.350	569.1	119.51	14.94	313.33	7.5	6.9	26.3	28.5			8.3	8.4 0.150 0.200	
15/08/2016	30	19.311	643.7	135.18	16.90	315.63	7.3	6.7	27.5	29.1			8.4	8.7 0.250 0.150	
16/08/2016	27	19.272	713.8	149.89	18.74	365.52	7.4		29.1				8.4		
T R A N S F E R E N C I A															

Conclusões:

Sergio Zimmermann

President

Industrievæien, 13
Pollgata 22B
N-6600, Sunndalsora | Norge/Norway

+47 9925 4356

+1 305 213 0847

+55 51 8114 7475

contact@sergiozimmermann.com

www.sergiozimmermann.com

Whatsapp: +55-51-9-8114-7175