

Variações hidrobiológicas em cultivos de camarão *Litopenaeus vannamei*, sob uso de probiótico.

Glauber Carvalho¹; Silvio J. Macedo; Sônia V. Pereira; Emiko S. Mendes.

¹: Instituto de Tecnologia de Pernambuco; glauber@itep.br

Introdução

O desenvolvimento da carcinicultura marinha estará sempre dependente da aplicação de um rígido programa de gerenciamento da qualidade da água utilizada para o cultivo, tendo presente que as áreas estuarinas há décadas vêm sofrendo intensa ação antrópica, o que exige a adoção de práticas eficazes de manejo e controle adequado dos parâmetros de qualidade de água e do sedimento. Estas ações tornam-se essenciais para a manutenção das condições favoráveis do ambiente de cultivo, uma vez que as variações podem desencadear efeitos negativos a saúde dos camarões, refletindo em prejuízos ao produtor. Dentre os efeitos negativos ao camarão cultivado, destacam-se as vibrioses ocasionadas por bactérias Gram negativas predominantes em ambiente marinho e frequentemente reportadas como causadoras de mortes de animais cultivados, ocasionadas principalmente pelas espécies *Vibrio harveyi*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* e *V. alginolyticus*.

A biotecnologia tem sido uma ferramenta de importância crescente na aquicultura, em especial o uso de microrganismos vivos selecionados (Probióticos) com vistas à sustentabilidade do meio, a redução da utilização de produtos químicos e a sanidade dos animais cultivados. Os microrganismos benéficos comumente utilizados em aquicultura são bactérias Gram-positivas (*Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp.), Gram-negativas (*Vibrio alginolyticus*, *V. fluvialis*), fungos, microalgas, dentre outros (IRIANTO; AUSTIN, 2002; SAHU et al., 2007). No entanto, há limitações para o entendimento do real mecanismo e ação desses microrganismos, demandando ampliação de estudos mais aprofundados sobre o tema.

Objetivou-se neste trabalho avaliar as condições hidrobiológicas nos ecossistemas de cultivo sob

influência de composto comercial probiótico, através de análises físicas, químicas e biológicas, bem como da sanidade dos animais cultivados.

Material e método

A área estudada está localizada no litoral sul de Pernambuco (08° 39' 26" S e 35°07'02" W), em uma fazenda com área de 16,04 ha destinados à produção de camarão *L. vannamei*. Três viveiros de engorda (VE) foram avaliados, denominados originalmente de (VE2), (VE3) e (VE4) com tamanhos de aproximadamente 2,0 ha e históricos de 20 cultivos realizados, utilizando-se densidade de 30 camarões/m² povoados com PL 20.

Composto comercial probiótico a base de bactérias e fungos foi inserido diariamente na água (PA) em uma proporção de 10 L/ha durante todo o ciclo no VE3 e VE4, em concentração aproximada a 107 Unidades Formadoras de Colônia (UFC)/mL. O viveiro VE2 foi determinado como controle e não recebeu probiótico (SP).

Coletas semanais (93) foram realizadas durante um ciclo de produção, totalizando 18 amostragens no VE3 (out/07 a jan/08), 20 no VE4 (out/07 a março/08), 20 no VE2-SP (jan a maio/08) e 35 no canal de abastecimento (out/07 a maio/08). As amostragens foram efetuadas às 8:00 h da manhã através de uma garrafa oceanográfica de Nansen, no canal de abastecimento e em três pontos distintos do viveiro (comporta de abastecimento, meio e comporta de drenagem), cujas análises físicas, químicas e biológicas foram realizadas no Laboratório de Tecnologia Ambiental do Instituto de Tecnologia de Pernambuco (ITEP) e de Sanidade de Organismos Aquáticos da UFRPE.

Os seguintes parâmetros foram avaliados: salinidade (método de Mohr-Knudsen, descrito por Strickland e Parsons (1972)); oxigênio dissolvido

(método de Winckler, modificado por Strickland e Parsons (1972)); demanda bioquímica de oxigênio - DBO (APHA, 2005); clorofila a (Parsons e Strickland, (1963) e UNESCO (1966)). In situ foram efetuadas medições de pH e temperatura com o auxílio de um potenciômetro da marca WTW e a transparência (m) com o auxílio de um disco de Secchi.

Para análise de *Vibrio*, as amostras de água foram diluídas (10⁻¹ a 10⁻⁷) e alíquotas de 0,1 mL semeadas em placas de Petri contendo o meio Ágar Tiosulfato Citrato Sais de Bile (TCBS). Após o isolamento de colônias características, foi realizado o estudo do perfil bioquímico, seguido a orientação de Holt et al. (1994) e do FDA (1998).

Visando a identificação de diferenças significativas entre os diferentes tratamentos foi realizado o Teste Tukey no programa STATISTICA versão 6.0.

Resultados

Resultados de Qualidade da água

Os resultados das análises de qualidade de água para produção de camarão *L. vannamei*, bem como do canal de abastecimento estão descritos na Tabela 1. Procurou-se evidenciar diferenças significativas (p<0,05) entre os ambientes de cultivos sem aplicação de probiótico (VE2 SP) e sob uso de probiótico na água (VE3 e VE4), com a água do estuário (canal de abastecimento). Não foram registradas diferenças significativas entre os pontos de amostragens internos no viveiro, para os três ambientes estudados.

Os resultados médios para transparência da água do canal estiveram dentro das condições ide-

ais para cultivos de camarão (>0,60m), conforme reportado por Barbieri Jr. e Ostrensky Neto (2002). Nos viveiros não foi observado diferenças (P>0,05) nas leituras do disco de Secchi, apresentando médias próximas ao nível ideal para viveiros (entre 0,3 e 0,5 m) segundo Boyd (2002) e Kubitzka (2003). Os valores de pH mantiveram-se alcalinos e dentro da escala satisfatória (entre 6 a 9) ao crescimento dos camarões (BOYD, 2002) com média mais elevada para o viveiro controle.

Não foram registradas diferenças significativas para a temperatura da água, havendo tendência de conservação dos gradientes térmicos e valores em conformidade ao crescimento da espécie (26 a 33°C), preconizado por Nunes (2002).

A salinidade no canal apresentou média de 28,6, representando em parte os valores do estuário durante o período estudado, uma vez que a captação da água ocorreu diariamente nas preamaras. Nos viveiros, o teores médio variaram de 26 para o VE2(SP) a 32 para o VE4(PA), considerado abaixo do grau de risco (50) segundo Marques et al. (1999) e acima dos níveis ideais para a espécie entre 15 e 25 (KUBITZA, 2003).

Os níveis médios de oxigênio dissolvido estiveram dentro do indicado para o desenvolvimento da espécie (>4 mL.L⁻¹), observando-se nos viveiros sob uso do probiótico menores oscilações ao longo do ciclo (Figuras 1 e 2). A saturação de OD apresentou médias mais elevadas nos viveiros, com níveis acima do indicado a melhores sobrevivências e menor fator de conversão alimentar (>40%), de acordo com MacGraw et al. (2001).

A DBO em ambientes de cultivo indica a intensi-

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão das variáveis físicas, químicas e biológicas.

VARIÁVEIS	MÉDIAS			
	Canal de abastecimento	VE2 SP	VE3 PA	VE4 PA
Transparência (m)	1,19b ± 0,62	0,59a ± 0,04	0,58a ± 0,02	0,52a ± 0,02
pH	7,74c ± 0,17	8,4a ± 0,08	8,1b ± 0,06	8,1b ± 0,04
Temperatura ° C	28,5a ± 2,00	30,6a ± 0,31	29,2a ± 0,25	29,7a ± 0,23
Salinidade (‰)	28,6b ± 5,19	26b ± 6,38	31a ± 1,79	32a ± 0,88
O D mL.L ⁻¹	4,12 a* ± 1,23	4,59a ± 1,07	4,17a ± 0,81	4,59a ± 1,25
Saturação (%)	88,7b ± 26,94	102a ± 23,08	92,6ab ± 18,0	102,9a ± 27,0
DBO mg.L ⁻¹	4,67c ± 1,69	14,82a ± 2,82	6,0c ± 2,45	9,5b ± 1,96
Clorofila (mg.m3)	14,2d ± 8,94	81a ± 9,48	46c ± 5,94	64b ± 7,57

*Letras distintas na mesma linha indicam diferença ao nível de probabilidade (p<0,05).

dade do processo de mineralização e metabolismo das comunidades vivas, principalmente a biomassa fitoplanctônica, maior produtora de matéria orgânica nos viveiros. Diferenças significativas foram registradas entre ambientes de cultivo, com média mais elevada para o viveiro controle (14,23 mg.L⁻¹). Yusoff et al. (2003) em cultivos de *Penaeus monodon* com probiótico, registraram médias mais elevadas para os viveiros controles (22,3 mg.L⁻¹), porém não verificaram diferença significativa. Os resultados de clorofila a no canal de abastecimento revelaram condição eutrófica e de alta produção fitoplanctônica no estuário, dentro da classificação de Passavante (2003). Nos viveiros foram registradas diferenças significativas e média mais elevada para o ambiente sem uso de probiótico (81 mg.m⁻³).

Resultado das análises bacteriológicas

As bactérias heterotróficas desempenham papel importante nos viveiros, pois decompõem a matéria orgânica existente e ainda podem ser manipuladas como fonte potencial de alimento para os detritívoros, devido ao seu rápido crescimento e valor nutricional (MacGRAW, 2002). As concentrações médias de bactérias heterotróficas foram mais elevadas na água do estuário, registrando-se nos ambientes de cultivo médias mais elevadas no viveiro sem probiótico VE2-SP (3,3 x 10⁷), seguidos do VE4-PA (4,5 x 10⁶) e VE3-PA (3,3 x 10⁶). Sugere-se, pelos resultados obtidos, que a adição diária do composto probiótico nos viveiros favoreceu a manutenção das cargas microbianas, apesar de uma possível competição entre a microbiota do meio e as inseridas através do produto.

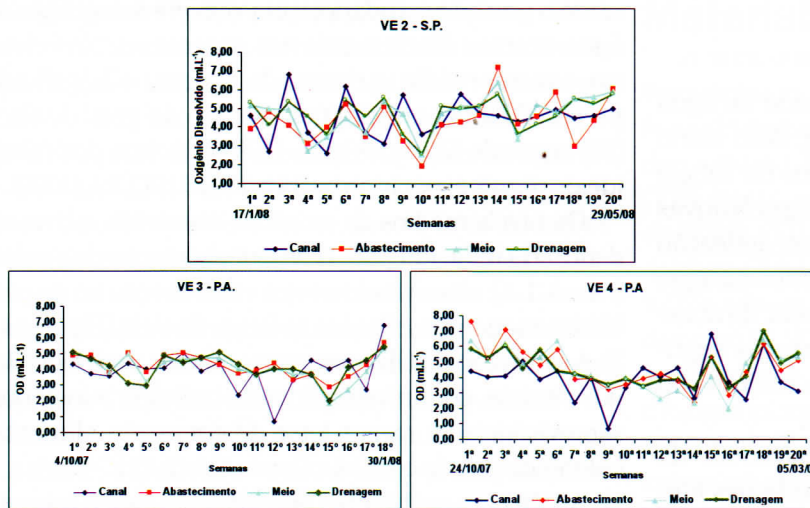


Figura 1. Variação do oxigênio dissolvido nos tratamentos VE2-SP, VE3-PA e VE4-PA.

As contagens de *Vibrio* spp. variaram de 3,0 x 10² a 7,3 x 10⁶ UFC/mL, tendo sido identificadas 12 espécies, prevalecendo o *Vibrio alginolyticus*, *V. harveyi* e *V. fischeri*. Na água de captação, o *Vibrio harveyi* foi a espécie dominante, aparecendo em 28% das amostras, enquanto no VE4(PA), o *Vibrio alginolyticus* predominou entre as demais espécies. No VE2(SP) e VE3(PA) as espécies identificadas se encontravam no mesmo percentual, representando cada uma 25% do total das espécies presentes nas amostras analisadas (Tabela 2). v

Dentre as espécies identificadas nos viveiros, o *Vibrio alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. cholerae* e *V. vulnificus*, são considerados patogênicos para camarões marinhos. Tais espécies foram reportadas por Mendes et al. (2005) como potenciais causadoras de infecções

entéricas, sistêmicas ou externas nos camarões cultivados. Em relação às espécies associadas à doenças em humanos, a exemplo da gastroenterite e septicemia, foram identificados o *Vibrio cholerae* e *V. vulnificus*, ambos considerados por Gopal et al. (2005) como os mais importantes, dentre os quais, o *V. vulnificus* prevaleceu em 50% das amostras do viveiro controle.

Apesar dos viveiros sob tratamento com probiótico apresentarem médias mais elevadas para as contagens de *Vibrio* spp., não foi demonstrada diferença significativa entre os mesmos ($p > 0,05$), o que também não ocorreu entre estes e o canal de abastecimento, o que vem comprovar que estas bactérias são autóctones de ambiente marinho e por isso se encontravam em números semelhantes nos dois ambientes. A redução da salinidade a partir da me-

Tabela 2. Contagens e identificação de espécies de *Vibrio* spp. na água.

AMOSTRA	LOCAL	MÉDIA	MÍNIMO	MÁXIMO	ESPÉCIES
Água UFC/ml	Canal	2,8 ^a ± 1,4 x 10 ³	3,0 x 10 ²	4,0 x 10 ⁵	<i>V. harveyi</i> ; <i>V. furnissi</i> ; <i>V. fischeri</i> , <i>V. tubiashi</i> ; <i>V. vulnificus</i>
	2 (SP)	2,6 ^a ± 2,0 x 10 ³	5,0 x 10 ²	1,5 x 10 ³	<i>V. tubiashi</i> ; <i>V. vulnificus</i>
	3 (PA)	3,4 ^a ± 2,1 x 10 ⁴	1,0 x 10 ³	5,5 x 10 ⁵	<i>V. cholerae</i> ; <i>V. cincinnatiensis</i> ; <i>V. vulnificus</i> ; <i>V. metchnikovii</i>
	4 (PAS)	3,3 ^a ± 2,8 x 10 ⁴	1,5 x 10 ²	7,3 x 10 ⁶	<i>V. alginolyticus</i> ; <i>V. fischeri</i> ; <i>V. vulnificus</i> ; <i>V. mediterranei</i>

* Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p<0,05).

tade do ciclo no VE2 e VE4 pode estar diretamente associada à inibição dos víbrios no final do cultivo para estes ambientes, uma vez que apenas no VE3 onde a salinidade variou pouco, foi registrada a presença de víbrio nas últimas semanas.

Segundo Jiang e Fu (2001), a salinidade é um parâmetro que influencia nas populações de víbrios em ambientes costeiros. Em relação à diversidade de espécies, maior abundância foi registrada nos viveiros tratados com probiótico, indicando que a adição constante no viveiro de microbiota selecionada pode acarretar processos ecológicos que venham a favorecer algumas espécies.

Avaliação do estado de saúde dos camarões

Os resultados das avaliações presuntivas através de exame a fresco indicaram um menor índice de lesões nas estruturas dos camarões amostrados nos viveiros sob uso de probiótico, enquanto para o viveiro controle foi detectada elevada presença de necrose e/ou sujeira nas brânquias, protozoários no epipodíto, gametócitos e gregarinas no ceco e/ou intestino, estrangulamento dos túbulos do hepatopâncreas e ausência de lipídios (Figura 2).

Os resultados das análises presuntivas indicaram efeito benéfico da microbiota adicionada nestes ambientes, não somente pela melhoria nas con-

dições ambientais, como também, numa possível competição com os microrganismos patogênicos, refletindo positivamente na saúde dos animais cultivados, conforme reportou Balcazar (2006) em estudos com probiótico.

Conclusão

As análises dos resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões: (i) o uso de composto microbiano nos viveiros proporcionou uma maior estabilidade nos níveis de Oxigênio Dissolvido (OD) e influenciou na Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), demonstrando ação biorreguladora do composto; (ii) a variável salinidade influenciou na redução das cargas de víbrios nos períodos de menor salinidade; (iii) o probiótico demonstrou efeito positivo como reparador ambiental, atuando principalmente na manutenção dos parâmetros de qualidade de água e indiretamente no estado de sanidade dos animais, que apresentou um menor número de lesões nos ambientes testes.

Agradecimentos

O apoio financeiro da FINEP no âmbito da Rede de Carcinicultura do Nordeste (RECARCINE).

Referências Bibliográficas disponíveis na ABCC ■

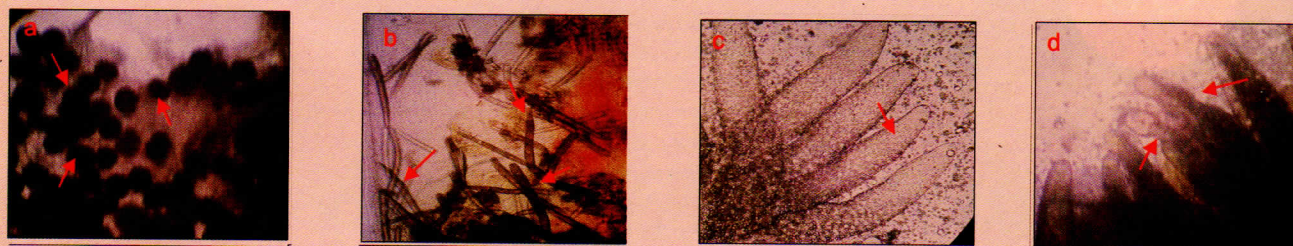


Figura 2 - Alterações observadas nos camarões: presença de gametócitos no ceco pilórico (a), gregarinas no intestino (b), deformidade e ausência de lipídeos nos túbulos do hepatopâncreas (c) e estrangulamento dos túbulos do hepatopâncreas (d).