

SELEÇÃO DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁCTICAS COM POTENCIAL PROBIÓTICO EM LAMBARIS¹

Lilian Dordete Steckert²; Adolfo Jatobá³

INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade em crescimento, esta inclui o cultivo de diversas espécies de peixes, crustáceos e moluscos em ambiente dulcícola e marinho. O Brasil por sua vez, é um país com grande prateleira continental, uma costa marítima extensa sobre o Oceano Atlântico, com grandes bacias hidrográficas e grande quantidade de lagos e açudes, contribuindo para o desenvolvimento aquícola do país e constituindo uma atividade promissora (FAO, 2003).

O lambari (*Astyanax* sp.) pode ser considerado uma opção interessante para a piscicultura brasileira. Seu cultivo chama atenção devido ao seu rápido crescimento, alimentação variada (plantas insetos, ovos de outras espécies) e por se adaptar a diversos ambientes. Esta espécie é utilizada como indicador da qualidade ambiental em que estão inseridos, pois geralmente são os primeiros peixes a morrer em tanques que estão em desequilíbrio nos níveis de oxigênio, amônia, pH e doenças (BALDISSERROTO & GOMES, 2010).

Assim como as técnicas de manejo, o conhecimento em sanidade é um dos aspectos mais importantes na produção de organismos aquáticos. Pois, um meio no qual a disseminação de patógenos ocorre com alta velocidade, riscos quanto à morbidade e mortalidade aumentam e, conseqüentemente, ocasionam grandes perdas na piscicultura (MARTINS, 1995; ROMANO, 1995). No Brasil, o crescimento da piscicultura intensiva vem associado ao aumento da incidência de doenças nos sistemas de produção (COSTA, 2003).

O uso de substâncias quimioterápicas com o objetivo de reduzir as mortalidades vem sendo adotado há algum tempo. Entre estes quimioterápicos, os antibióticos são os mais utilizados. Entretanto, o uso excessivo destes aumenta a pressão da seleção sobre os micro-organismos, promovendo o aumento da

¹O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil

²Aluno do Instituto Federal Catarinense – Câmpus Araquari

³Aluno do Instituto Federal Catarinense – Câmpus Araquari

resistência bacteriana (VERSCHUERE et al., 2000). Assim, os probióticos constituem uma das alternativas viáveis para substituir os antibióticos no controle preventivo de doenças (NIKOSKELAINEN et al., 2001;; GILDBERG et al., 1997). Sua utilização concomitante a melhorias nas técnicas de manejo tornam o ambiente e os animais mais saudáveis dificultando assim os possíveis surtos de mortalidade e perdas na produção.

Alguns micro-organismos são utilizados como probióticos na aquicultura, que para fins didáticos podem ser divididos em três grandes grupos: leveduras, bactérias Gram negativas e Gram positivas. Dentre as bactérias Gram positivas, há o interesse no uso das bactérias ácido-láticas devido a sua capacidade de inibir o crescimento de bactérias patogênicas pela produção de compostos antibacterianos, como os ácidos orgânicos (FULLER, 1989) sua ação imunoestimulante (VIEIRA et al., 2008), e sua capacidade de produzir enzimas digestivas, como protease e fitase (BOGATYRENKO et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi isolar bactérias ácido-láticas do trato intestinal do lambari do rabo amarelo (*Astyanax bimaculatus*) e do rabo vermelho (*A. fasciatus*) e verificar a capacidade inibitória das bactérias ácido-láticas contra bactérias patogênicas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus durans*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* e *Aeromonas hydrophyla*).

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O trabalho foi realizado na Unidade de Ensino e Aprendizagem de Aquicultura do Instituto Federal Catarinense câmpus Araquari, em parceria com o setor de microbiologia do laboratório de camarões marinhos (LCM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Foram selecionados lambaris do rabo amarelo (*Astyanax bimaculatus*) e do rabo vermelho (*A. scabripinnis*), saudáveis. Posteriormente, foram coletadas amostras dos intestinos, para isto os peixes foram anestesiados em óleo de cravo (1%) e sacrificados por comoção cerebral. As amostras foram maceradas com solução salina estéril 0,65% de NaCl (SSE), diluídas serialmente (fator 1:10) e semeadas em Petri com meio de cultura Agar Man Rogosa Sharpe (MRS) modificado por Ramirez et al. (2006). As placas semeadas foram incubadas por 48h

em estufa a 35°C. Após a incubação, as colônias foram identificadas morfológicamente pelo método de coloração de Gram. As de interesse (cocos e bacilos Gram positivos) foram semeadas em novo meio de cultura Agar MRS para isolamento por esgotamento em placa.

No setor de microbiologia do IFC - Araquari, As bactérias ácido-láticas isoladas foram selecionadas *in vitro* através da capacidade inibitória contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus durans*, *Micrococcus luteos*, *Escherichia coli* e *Aeromonas hydrophyla*. A inibição *in vitro* foi realizada de acordo com Jatobá et al. (2008).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Trinta e uma cepas de bactérias ácido lácticas foram isoladas, sendo nove do trato intestinal do lambari do rabo amarelo (*Astyanax bimaculatus*), e vinte e uma cepas isoladas do trato intestinal do lambari do rabo vermelho (*A. scabripinnis*), todas classificadas através do teste de GRAM (Tabela 1).

Das cepas de bactérias ácido-láticas isoladas, vinte e duas não se adaptaram as condições laboratoriais. As demais cepas passaram por testes *in vitro* contra bactérias patogênicas, no qual LA7 e LV11 apresentaram a maior capacidade inibitória (Tabela 2), demonstrando um potencial probiótico.

Tabela 1 - Origem e classificação morfológica de cepas de bactérias ácido-láticas isoladas do trato intestinal de lambaris do rabo amarelo (*Astyanax bimaculatus*), e lambaris do rabo vermelho (*Astyanax scabripinnis*).

Bactéria Ácido Láctica	Origem	Presente no cepário	GRAM	Morfologia
LA1	<i>A. bimaculatus</i>	Eliminada	+	Bacillus/bacilococcus
LA2	<i>A. bimaculatus</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LA3	<i>A. bimaculatus</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LA4	<i>A. bimaculatus</i>	Sim	+	Bacilococcus
LA5	<i>A. bimaculatus</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LA6	<i>A. bimaculatus</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LA7	<i>A. bimaculatus</i>	Sim	+	Bacilococcus
LA8	<i>A. bimaculatus</i>	Sim	+	Bacilococcus
LA9	<i>A. bimaculatus</i>	Eliminada	+	Bastonetes/Bacilococcus

LV1	<i>A. scabripinnis</i>	Sim	+	Bacillococcus
LV2	<i>A. scabripinnis</i>	Sim	+	Bacillococcus
LV3	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV4	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV5	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV6	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes/Bacillus
LV7	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes/Bacillus
LV8	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes/Bacillus
LV9	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV10	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV11	<i>A. scabripinnis</i>	Sim	+	Bacillococcus
LV12	<i>A. scabripinnis</i>	Sim	+	Bacillococcus
LV13	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV14	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bacillus
LV15	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV16	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV17	<i>A. scabripinnis</i>	Sim	+	Bacillococcus
LV18	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV19	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV20	<i>A. scabripinnis</i>	Eliminada	+	Bastonetes
LV21	<i>A. scabripinnis</i>	Sim	+	Bacillococcus

Tabela 2 - Valores médios (mm) dos halos de inibição de bactérias ácido-lácticas contra cepas de bactérias patogênicas.

Bactéria ácido láctica	<i>Micrococcus luteos</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus durans</i>	<i>Aeromonas hydrophyla</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Média
LA4	1,33	0,00	1,00	1,00	1,00	1,13
LA7	2,66	0,00	1,05	1,25	2,00	1,84
LA8	2,50	0,00	1,50	1,25	1,50	1,75
LV1	1,50	1,50	0,00	1,00	1,00	1,25
LV2	1,50	0,00	1,00	0,00	1,00	1,2
LV11	2,83	1,50	1,75	1,83	1,66	1,96
LV12	1,00	1,00	0,00	1,50	0,00	1,2
LV17	2,33	1,25	0,00	1,75	1,00	1,67
LV21	1,83	0,00	1,00	1,00	1,00	1,13

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As cepas A7 e V11 demonstraram seu potencial probiótico por meio da capacidade inibitória de cepas patogênicas. Entretanto este efeito probiótico deve

ser confirmado após ensaios *in vivo*, e confirmado seus efeitos benéficos na saúde destes animais.

REFERÊNCIAS

- BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. 2.ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2010.
- BOGATYRENKOVA, E. A.; BUZOLEVAA, L.S.; CHIB, Z. Potential Probiotics of the Far Eastern Trepang *Apostyichopus japonicus* Producing Digestive Enzymes. **Microbiology**, v. 79 (2), p.173–177, 2010.
- COSTA, A.B. **Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2003. 54p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Universidade de São Paulo, 2003.
- FAO. Review of the state of world Aquaculture. **Fisheries Circular**, v. 886, Rome, 2003, 95p.
- FULLER R. Probiotics in man and animals, a review, **J. Appl. Bacteriol.**, v. 66, p.365–378, 1989.
- GILDBERG, A.; MIKKELSEN, H.; SANDAKER, E. et al. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of bacalhau do atlântico (*Gadus morhua*). **Hydrobiologia**, v.352, p. 279-285, 1997.
- JATOBA, A. **Utilização de probiótico em sistema de policultivo de tilápias com camarões marinhos**. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- MARTINS, M.L. Effect of ascorbic acid deficiency on the growth, gill filament lesions and behavior of pacu fry (*Piaractus mesopotamicus*) Holmberg, 1887. **Braslian Journal of medical and Biological Research**, Riberão Preto, n. 28, p.563-568, 1995.
- NIKOSKELANEN, S.; SALMINEN, S.; BYLUND, G. et al. Characterization of the properties of human and dairyderived probiotics for prevention of infectious diseases in fish. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, n.6, p. 2430-2435, 2001.
- RAMÍREZ, C.; BOLÍVAR, A.; CIFFONI, G.A.; PANCHENIAK, E.M.G.; SOCCOL, E.F.R.C. Microorganismos lácticos probióticos para ser aplicados en la alimentación de larvas de camarón y peces como substituto de antibiótico. **La Alimentación Latino Americana**, v.264, p.70-78, 2006.
- ROMANO, L.A. Imunologia, hematologia y patologia hemolinfóide de vertebrados acuáticos. **Fundacion Bar-Ilan**, p.15, 1995.
- VERSCHUERE, L.; HEANG, H.; CRIEL, G. et al. Selected bacterial strains protect *Artemia* ssp. From the pathogenic effects of *Vibrio proteolyticus* CW8T2. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.3, p.1139-1146, 2000.
- VIERIA, F.N.; BUGLIONE, C.C.; MOURIÑO, J.L.P.; JATOBÁ, A.; RAMIRES, C.; MARTINS, M.L.; BARRACCO, M.A.A.M.; VINATEA, L.A. Time-related action of *Lactobacillus plantarum* in the bacterial microbiota of shrimp digestive tract and its action as immunostimulation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p. 763-769, 2008.