

Avaliação de Parâmetros Hematológicos e Imunológicos do Pacu *Piaractus mesopotamicus* suplementados com mananoligossacarídeos e β -Glucano

Evaluation of hematological and immunological parameters of Pacu *Piaractus mesopotamicus* supplemented with mananoligosaccharides and β -glucan

RESUMO

Gabriel Kyoshi Rodrigues
gabrielr@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná,
Brasil

Ricardo Yuji Sado
ricardoyado@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná,
Brasil

O sistema imune dos peixes geralmente é baseado por indicadores sanguíneos, entretanto, a primeira linha de defesa é a do muco. Deste modo, o presente estudo utilizou os suplementos de prebióticos de mananoligossacarídeos e β -glucano em juvenis de pacu, avaliando assim os efeitos no sistema imunológico. Foram utilizados 216 juvenis de pacu ($93,82 \pm 7,09g$) distribuídos em doze caixas de polietileno (250l), alimentando duas vezes ao dia com dieta controle, mananoligossacarídeos, beta-glucano e mananoligossacarídeos + beta-glucano durante 45 dias, até a aparente saciedade. Ao final do experimento, além dos parâmetros sanguíneos, o sangue também foi utilizado para determinação da concentração de lisozima sérica, juntamente com a coleta do muco, posteriormente avaliados. Os dados foram submetidos à ANOVA e comparados pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Os peixes alimentados com as dietas de MOS+beta-glucano tiveram menores concentrações de lisozima no muco, quando comparados com os demais tratamentos que não diferiram estatisticamente entre si. A hemoglobina obteve diferença significativa em cima de todos os tratamentos acima do controle. Os parâmetros hematológicos mostraram que a suplementação fornecida na dieta foi eficiente em induzir as respostas imunoestimulantes. Desta forma concluiu-se que os prebióticos ofertados na dieta foram eficazes no melhoramento da imunidade.

PALAVRAS-CHAVE: PACU, PREBIÓTICOS, HEMATOLÓGICOS.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



ABSTRACT

The stress / immune ratio of fish is usually based on blood indicators, but the first line of defense is that of mucus. Thus, the present study used the supplements of mannanoligosaccharides and β -glucan prebiotics in pacu juveniles, thus evaluating the effects on the immune system. Two hundred and twenty-two pacu juveniles ($93.82 \pm 7.09g$) were distributed in twelve polyethylene boxes (250l), fed twice a day with a control diet, mannanoligosaccharides, beta-glucan and mannanoligosaccharides + beta-glucan for up to 45 days. the apparent satiety. At the end of the experiment, in addition to blood parameters, blood was also used to determine the concentration of serum lysozyme, along with mucus collection subsequently evaluated. Data were submitted to ANOVA and compared by Tukey test ($\alpha = 0.05$). Fish fed MOS + beta-glucan diets had lower mucus lysozyme concentrations when compared to the other treatments that did not differ statistically. Hemoglobin

obtained significant difference over all treatments above control. Hematological parameters showed that dietary supplementation was efficient in inducing immunostimulant responses. Thus, it was concluded that dietary prebiotics were effective in improving immunity.

KEYWORDS: PACU, PREBIOTICS, HEMATOLOGICAL

INTRODUÇÃO

O pacu é um dos peixes cuja a espécie é abundante em produção continental, cerca de 80% dos sistemas de produção comercial em todos os estados brasileiros Lopes et. al., (2006). Entre as espécies tropicais cultivadas, o pacu tem grande potencial para as pisciculturas devido ao manejo da espécie, taxa de crescimento e aceitação de mercado Jomori et. al. (2003).

Os prebióticos são suplementos alimentares, que visam promover maior resistência aos peixes contra doenças, por meio da modulação do seu sistema imune (Gatesoupe, 1999), com a finalidade de melhorar o desempenho produtivo.

Entre os prebióticos, o mananoligossacarídeo (MOS) se destaca em seu uso na alimentação animal. Oriundo da parede celular de levedura *Saccharomyces cerevisi*, quimicamente possui 40% de β -glucana, 40% de α -mananos, 28% de proteínas, 7% de lipídeos, 3% de substâncias e 2% de hexosaminas e quitinas [14]. O MOS é rico em manose, disponível para aderência bacteriana, adsorvendo os patógenos e inibindo sua ligação com a parede intestinal Scwharz et. al., (2001).

As beta-glucanas são polissacarídeos formados por monômeros de β -glicose, unidas por ligações beta-glicosídicas, provenientes da parede celular de bactérias, fungos, plantas e leveduras Dalmo et. al. (2008). Apresentam 40% α -mananos, 8% proteína, 7% de lipídios, e 3% de substâncias inorgânicas. A ação da beta-glucanas na dieta para animais aquáticos o mecanismo de sítio de defesa não específico, estimulando a fagocitose dos macrófagos (Engstad, 1993) e a migração dos leucócitos por meio da atividade dos macrófagos, além de acrescentar a produção de proteínas líticas, como lisozimas e proteínas do sistema complemento, desta forma favorecendo maior proteção contra patógenos Gopalakannan et. al. (2010).

METODOLOGIA

Exemplares de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) adquiridos de piscicultura comercial, mantidos nas instalações da unidade de ensino e pesquisa – UNEPE PISCICULTURA da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR Campus Dois Vizinhos. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a aparente saciedade, os tratamentos com dietas experimentais ocorreram no período de 45 dias, assim os três tratamentos com dieta controle, sem suplementação de prebióticos, dieta com mananoligossacarídeo (MOS) com 0,2% de inclusão, dieta β -glucano com 0,2% de inclusão e dieta MOS/ β -glucano com 0,1% MOS + 0,1% β -glucano.

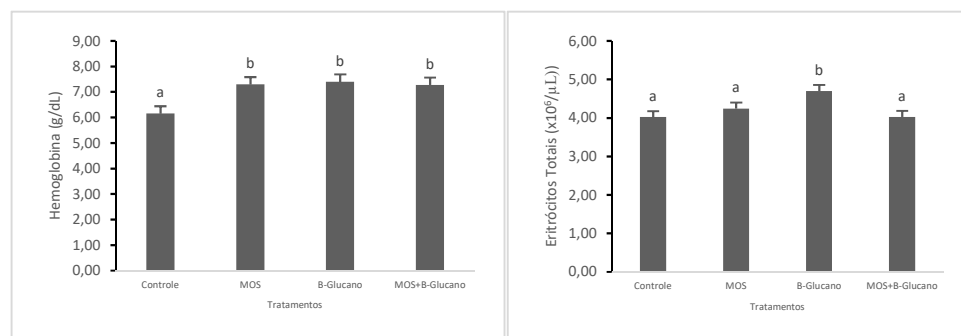
As amostras de sangue de cada peixe foram colhidas por punção vaso caudal, com o auxílio de seringas plásticas descartáveis de 3 mL, previamente umedecidas com solução de EDTA. Foram avaliados os índices de contagem total de eritrócitos em câmara de Neubauer e concentração de hemoglobina pelo método cianeto-hemoglobina proposto por Blaxhall et al. (1973).

Contagem total de leucócitos e trombócitos, coloração pelo método de Rosenfeld (1947) a contagem total de leucócitos e trombócitos será realizado pelo método indireto Martins et al., (2004). As variáveis hematimétricas hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) serão determinadas de acordo com Wintrobe (1934). A determinação da concentração de lisozima no muco proposto por Ross et al. (2000). Os dados foram submetidos á análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da concentração de hemoglobina demonstraram concentrações superiores que a do controle, e os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si. Na contagem total de eritrócitos os tratamentos com β -glucano aumentaram significativamente o número de eritrócitos em relação ao controle, demonstrando que nos tratamentos MOS e MOS+ β não se diferem significativamente (Figura 1).

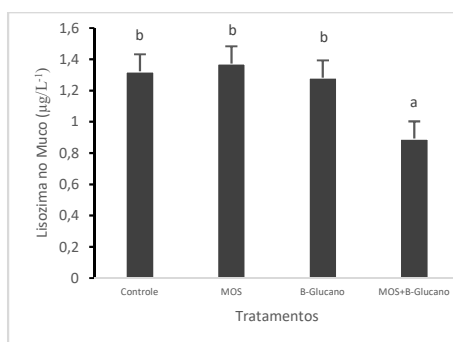
Figura 1 - Concentração de hemoglobina e contagem total de eritrócitos de juvenis de pacu *P.mesopotamicus*, alimentados com prebióticos na dieta com 45 dias de inclusão. Diferentes letras acima de cada coluna denotam diferença estatística pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).



Fonte: Autoria própria (2019).

Os resultados obtidos demonstraram que as concentrações de lisozima no muco, somente o tratamento com MOS+ β apresentaram diferença média abaixo do controle do que os outros tratamentos durante 45 dias (Figura 2).

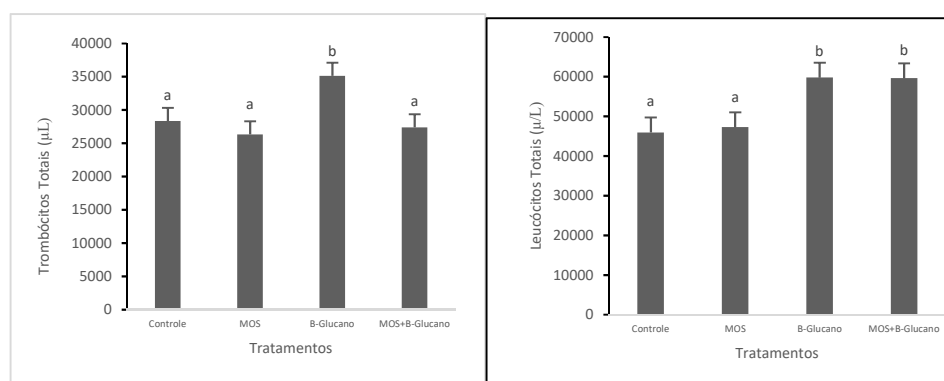
Figura 2 - Concentração de lisozima no muco de juvenis de pacu *P.mesopotamicus*, alimentados com prebióticos na dieta com 45 dias de inclusão. Diferentes letras acima de cada coluna denotam diferença estatística pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).



Fonte: Autoria própria (2019).

Os resultados obtidos demonstraram que a contagem total de leucócitos e trombócitos, obtiveram a diferença significativa com o resultado do trombócitos no tratamento com β -Glucano em relação ao controle, os leucócitos tiveram diferença significativa em relação ao tratamento controle com os tratamentos de β -glucano e MOS+ β durante 45 dias (Figura 3).

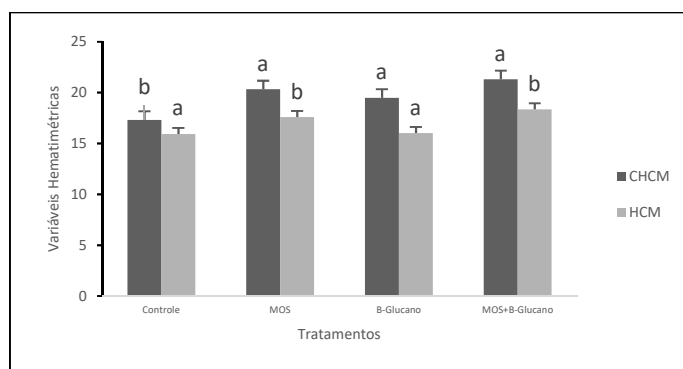
Figura 3 – Contagem total de leucócitos e trombócitos no muco de juvenis de pacu *P.mesopotamicus*, alimentados com prebióticos na dieta com 45 dias de inclusão. Diferentes letras acima de cada coluna denotam diferença estatística pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).



Fonte: autoria própria (2019).

Os resultados obtidos demonstraram que as variáveis hematimétricas foram superiores ao controle, no entanto para a HCM somente os peixes que receberam MOS e β -Glucano são superiores do controle, no CHCM os tratamentos foram superiores ao controle e obtiveram diferenças significativas. Entretanto as variáveis hematimétricas de HCM, apresentou a mesma média do controle no tratamento com β -glucano, em relação aos demais tratamentos durante 45 dias (Figura 4).

Figura 4 – Variáveis hematimétricas de juvenis de pacu *P.mesopotamicus*, alimentados com prebióticos na dieta com 45 dias de inclusão. Diferentes letras acima de cada coluna denotam diferença estatística pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).



Fonte: autoria própria (2019).

CONCLUSÃO

Conclui-se que os prebióticos adicionado a ração de juvenis de pacu não apresentaram atividade imunoestimulatória. Portanto é preciso mais estudos para que seja afirmado o efeito dos prebióticos na alimentação de juvenis de pacu.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos a CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento concebido pela bolsa e para concessão do projeto e a UTFPR Universidade Tecnológica Federal do Paraná por conceber o projeto em seu âmbito educacional.

REFERÊNCIAS

- LOPES, R. B. et al. Bioconcentration of trichlorfon insecticide in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Chemosphere, Oxford, v. 64, n. 1, p. 56-62, 2006.
- JOMORI, R. K. et al. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. Aquaculture, Oxford, p. 277-287, 2003.
- GATESOUBE, F. J. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture, Oxford, v. 180, n. 1-2, p. 147-165, 1999.
- SCHWARZ, K.K., FURUYA, W. M., Mananoligossacarídeos em dietas para larvas de tilápia, Revista Brasileira de Zootecnia, v.40, n.12, pg.2634-2640, 2001.
- DALMO, R. A.; BØGWALD, J. β -glucans as conductors of immune symphonies. Fish & Shellfish Immunology, Oxford, v. 25, n. 4, p. 384-396, 2008.
- ENGSTAD, R. E. Recognition of yeast cell wall glucan by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages. Developmental and Comparative Immunology, New York, v. 17, n. 4, p. 319-330, 1993.
- BLAXHALL, P. C.; DAISLEY, K. W. Routine hematological methods for use with fish blood. Journal of fish Biology, v. 5, p. 771-781, 1973.
- ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só 37 Pacu hematology fed dietary MOS em corante de emprego rápido. Memórias Instituto Butantã, v. 20. p. 329-334, 1947.
- MARTINS, M. L.; TAVARES-DIAS, M.; FUJIMOTO, R. Y.; ONAKA, E. M.; NOMURA, D. T. Hematological alterations of *Leporinus microcephalus* (Osteichthyes:Anostomidae) naturally infected by *Goezia leporine* (Nematoda:

Anisakidae) in fish pond. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 56, n. 5, p. 640-645, 2004.

WINTROBE, M.M. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Hematologica**, v. 51, p. 32-49, 1934.

ROSS, N. W., FIRTH, K. J., WANG, A., BURKA, J. F., JOHNSON, S. C. Changes in hydrolytic enzyme activities of naïve Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation . **Diseases of Aquatic Organism**, v. 41, p. 43-51, 2000.