

**EFEITOS DOS POLISSACARÍDEOS SULFATADOS DA ALGA MARINHA PARDA
Lobophora variegata EM ALEVINOS DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)
SUBMETIDOS À DIFERENTES SALINIDADES**

José Ariévil Gurgel RODRIGUES*, Daniel Barroso de ALENCAR, Kelma Maria dos Santos PIRES, Jefferson Pablo de Souza SABOYA, Glácio Souza ARAÚJO, Valeska Martins TORRES, Wladimir Ronald Lobo FARIAS

Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará - UFC

*e-mail: arieviloengpesca@yahoo.com.br

Recebido em: 17 de abril de 2009

Resumo - O aumento dos cultivos comerciais de tilápias em regiões costeiras acarreta à exposição dos animais a diferentes situações de estresse pelo emprego de técnicas de transferência para águas com salinidades mais elevadas. O uso de polissacarídeos sulfatados (PS) de algas marinhas como agentes profiláticos sugerem reduzir o impacto do estresse nos cultivos de peixes e camarões. Objetivou-se avaliar o efeito da adição de diferentes doses de PS extraídos da alga marinha parda *Lobophora variegata* na água de cultivo de alevinos revertidos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes salinidades. Os PS foram extraídos com papaína bruta em tampão acetato de sódio 0,1 M (pH 5,0) contendo cisteína 5 mM e EDTA 5 mM, partir de algas marinhas coletadas na Praia do Pacheco/CE. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (0,0; 0,1; 0,3 e 5,0 mg/L) e quatro repetições. Diariamente, nos oito dias iniciais foram aplicados os PS na água de cultivo contendo os alevinos, os quais foram posteriormente submetidos por quatro dias a diferentes salinidades (10; 20; 30 e 40 g/L), 5 g/L de sal pela manhã e tarde, totalizando 10 g/L por dia, porém sem PS. As administrações de PS foram realizadas após cada troca de água. As variáveis físico-químicas foram também monitoradas. Verificou-se que as adições prévias dos PS na água de cultivo contendo os alevinos não surtiram efeitos na taxa de sobrevivência dos animais ($p > 0,05$). Por outro lado, o ganho de peso dos animais tratados com 0,5 mg/L de PS diferiu em relação ao tratamento controle ($p < 0,05$) e o diagnóstico dos animais que receberam o composto atestou um melhor quadro aparente de saúde após o período de aclimação.

Palavras-chaves: alga marinha, *Lobophora variegata*, polissacarídeos sulfatados, estresse salino.

EFFECTS OF SULFATED POLYSACCHARIDES FROM THE BROWN MARINE ALGA *Lobophora variegata* in TILAPIA FINGERLINGS (*Oreochromis niloticus*) SUBMITTED TO DIFFERENT SALINITIES

Abstract - The increase in the commercial cultivation of tilapia in coastal regions promotes to the exposure of animals to different stress situations by the use of techniques to transfer with higher water salinities. The use of sulfated polysaccharides (SP) obtained from seaweed as prophylactic agents can reduce the impact of stress on fishes and shrimps cultivations. Thus, it was aimed to evaluate the effect of addition at different doses of SP from the brown marine alga *Lobophora variegata* in reverted tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*) submitted to different salinities. SP was extracted with crude papain in 0.1 M sodium acetate (pH 5.0) containing 5 mM cysteine and 5 mM EDTA, from seaweeds collected at Pacheco Beach/CE. The experimental design was completely randomized to four treatments (0.0; 0.1; 0.3 and 5.0 mg/L), and four replications. Daily, in the initial eight days were applied to the SP in cultivation water containing the fingerlings, and then submitted for 4 days to different salinities (10; 20; 30 and 40 g/L), 5 g/L of salt in the morning and afternoon, totaling 10 g/L per day, without SP. The SP administrations were performed after each water exchange, and the physical-chemical parameters were also monitored. It was found that the previous addition of SP in cultivation water containing the fingerlings had no effect on survival rate ($p > 0.05$) of the animals. Moreover, the weight gain of animals treated with 0.5 mg/L of SP differed in relation to that the control treatment ($p < 0.05$), and diagnostic of animals that received the compound demonstrated a better health state after of the acclimation period.

Keywords: marine alga, *Lobophora variegata*, sulfated polysaccharides, salinity stress.

INTRODUÇÃO

As tilápias são cultivadas em diversos países do mundo, especialmente no Brasil, onde a linhagem da espécie *Oreochromis niloticus* conhecida como Tailandesa apresenta bons padrões de crescimento em diferentes sistemas de produção (Kubitza, 2000; Moreira *et al.*, 2001). Muitas espécies e linhagens de tilápias também são eurialinas, o que lhes confere sua capacidade de cultivo em água doce, salobra ou salgada como atividade comercial (Kubitza, 2005).

O crescimento populacional e a demanda mundial por proteína animal favorecem a piscicultura como atividade agropecuária promissora, especialmente no cultivo de tilápias, levando, como consequência, ao desenvolvimento de diversas tecnologias de produção para diferentes estágios de desenvolvimento desses peixes, tais como o emprego de hormônios masculinizantes no processo de reversão sexual na fase de larvicultura (Popma & Green, 1990), a produção de híbridos de tilápias, considerado este último benéfico do ponto de vista econômico e ambiental (Neto, Lopes & Oliveira, 2005) e na produção comercial de peixes em sistema tanques-rede (Ono & Kubitza, 2003). No entanto, com a expansão da atividade de cultivo para regiões estuarinas e marinhas, tornam-se evidentes os problemas relacionados à criação intensiva dos organismos aquáticos, uma vez que o confinamento (Barton & Zitzon, 1995; Cleary & Pankhurst, 2000; Barton *et al.*, 2003), a captura (Shrimpton, Zydlewski & McCormick, 2001), o transporte (Gomes *et al.*, 2003) e o manejo inadequado (Shrimpton, Zydlewski & McCormick, 2001) promovem estresse nos peixes.

Os imunoestimulantes são compostos capazes de minimizar o estresse, melhorar o estado de saúde e aumentar a sobrevivência dos organismos aquáticos (Sakai, 1999; Campa-Córdova *et al.*, 2002; Chotigeat *et al.*, 2004; Bricknell & Dalmo, 2005; Xue *et al.*, 2008). Diversos compostos derivados de animais, plantas, fungos, algas (micro e macroalgas) etc., têm sido avaliados quanto aos seus efeitos imunoestimulantes em organismos aquáticos em diversas fases de desenvolvimento (Bricknell & Dalmo, 2005; Montero-Rocha *et al.*, 2006; Citarasu *et al.*, 2006; Choi *et al.*, 2008; Xue *et al.*, 2008). Dentre eles, os polissacarídeos sulfatados (PS) extraídos de algas marinhas apresentam propriedades imunoestimulantes em peixes e camarões (Farias *et al.*, 2004; Barroso *et al.*, 2007; Fu *et al.*, 2007; Rodrigues *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2009a). Além do efeito imunoestimulante, os PS de algas marinhas também são conhecidos por possuir outras atividades biológicas, tais como antiviral, anticoagulante (Hayashi, Hayashi & Kojima, 1996; Zhang *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2009b) e antitrombótica (Farias, Nazareth & Mourão, 2001), despertando assim grande interesse nas ciências médicas.

O uso de PS de algas marinhas como agentes profiláticos tem sido relatados para peixes e

camarões. Campa-Córdova *et al.* (2002) reportaram que a imersão de PS extraídos de uma microalga cianofícea em juvenis do camarão branco *L. vannamei* proporcionou um aumento da capacidade oxidativa dos hemócitos nos animais. A incorporação dos PS extraídos da alga marinha vermelha *Botryocladia occidentalis* na ração de reversão de tilápias (*O. niloticus*) resultou no aumento da taxa de sobrevivência dos animais (Farias *et al.*, 2004). Costa *et al.* (2005) observaram que as algas marinhas vermelhas *B. accidentalis* e *Solieria filiformis* preveniram o impacto do vírus da mionecrose infecciosa (NIM) no camarão *L. vannamei*, quando os PS foram incorporados à ração. Uma melhoria na taxa de sobrevivência foi obtida quando os PS da alga marinha vermelha *Halymenia pseudofloresia* foram administrados na água de cultivo de camarões adultos da mesma espécie (Rodrigues, 2006). Quando esses mesmos polissacarídeos foram adicionados na água de cultivo durante o desenvolvimento do *L. vannamei*, observou-se uma maior uniformidade no ganho de peso dos animais (Rodrigues *et al.*, 2009a).

De forma a contribuir com a bioprospecção de novas macromoléculas com propriedades imunoestimulantes, alevinos revertidos de *O. niloticus* foram tratados com PS extraídos da alga marinha parda *Lobophora variegata*, avaliando-se a sobrevivência, ganho de peso e estado comportamental dos animais, quando submetidos a diferentes salinidades.

MATERIAL E MÉTODOS

COLETA E EXTRAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS SULFATADOS

A coleta da alga marinha parda *L. variegata* (Dicyotaceae, Phaeophyta) foi realizada na Praia do Pacheco-Ceará-Brasil, a qual foi conduzida ao Laboratório de Bioquímica Marinha do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará (DEP/UFC) para limpeza e estocagem a -20 °C.

Para extração dos PS, 2 g de alga desidratada ao sol e triturada foram hidratadas com 100 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M (pH 5,0) contendo cisteína 5 mM e EDTA 5 mM. Em seguida, adicionou-se uma solução de 4 mL de papaína bruta (30 mg/mL), sendo a mistura incubada em banho-maria (60 °C; 24 h). Logo após a digestão, o material foi filtrado, centrifugado (8000 × g; 25 min.; 4 °C) e, ao sobrenadante, foram adicionados 6,4 mL de cloreto cetilpiridínio a 10% (CCP) para precipitação dos PS (25 °C; 24 h). Após a precipitação, os PS foram centrifugados e lavados com 200 mL de CCP, sendo, posteriormente, dissolvidos 100 mL de solução contendo NaCl 2 M: etanol absoluto (100: 15; v/v). Em seguida, o material foi novamente precipitado com a adição de 122 mL de etanol absoluto por 24 horas a 4°C. Logo

após a precipitação, os PS foram lavados com 200 mL de etanol 80% (2x), 122 mL de etanol absoluto e, finalmente, secos em estufa (60°C; 24 h) (Farias, Nazareth & Mourão, 2001). O rendimento de PS foi 4,0%.

PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE PS

Diferentes doses de PS foram preparadas a fim de se obter concentrações finais de 0,0 (controle); 0,1; 0,3 e 0,5 mg/L na água de cultivo dos camarões. Inicialmente, os PS foram dissolvidos em um pequeno volume de água destilada e, em seguida, as referidas soluções foram adicionadas (dose/dia), respectivamente, pela manhã, sempre após a renovação de água (Rodrigues *et al.*, 2009a).

AQUISIÇÃO E ESTOCAGEM DOS ALEVINOS EM LABORATÓRIO

Foram utilizados 640 alevinos revertidos (ALR) de tilápias (*O. niloticus*) com peso médio inicial de $0,211 \pm 0,006$ g cedidos pela Estação de Piscicultura Professor Raimundo Saraiva da Costa da Universidade Federal do Ceará (UFC) e a pesquisa desenvolvida no Laboratório de Aqüicultura do Departamento de Engenharia de Pesca, UFC. Os alevinos foram aclimatados por 30 minutos em uma caixa d'água de 500 L e, em seguida, estocados aleatoriamente em aquários contendo 15 L de volume útil (2,66 ALR/L). Após a estocagem, os animais permaneceram sob observação durante quatro dias para que se recuperassem do estresse causado pelo transporte. Durante o período de aclimação, o experimento foi conduzido com renovação de 25% da água de cada aquário, por sifonamento, onde também foram retirados restos de ração e dejetos dos animais. O manejo alimentar ficou restrito a três refeições diárias (9; 13 e 17 h), até a saciedade, utilizando ração com 50% de proteína bruta.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi realizado no Laboratório de Aqüicultura (DEP/UFC) e seguiu um delineamento inteiramente casualizado constando de quatro tratamentos com quatro repetições cada, sendo o controle sem a adição do PS (T₁), e os três tratamentos contendo PS (T₂ - 0,1; T₃ - 0,3 e T₄ - 0,5 mg/L). Durante cada alimentação, o sistema de aeração foi desligado por 1 hora. O experimento teve duração de 12 dias, sendo 8 dias de administração dos PS e 4 de aclimação a salinidades crescentes (10; 20; 30 e 40 g/L de sal), divididos em 5 g/L de sal pela manhã e tarde, respectivamente (10 g/L de sal/dia) (Figura 1).

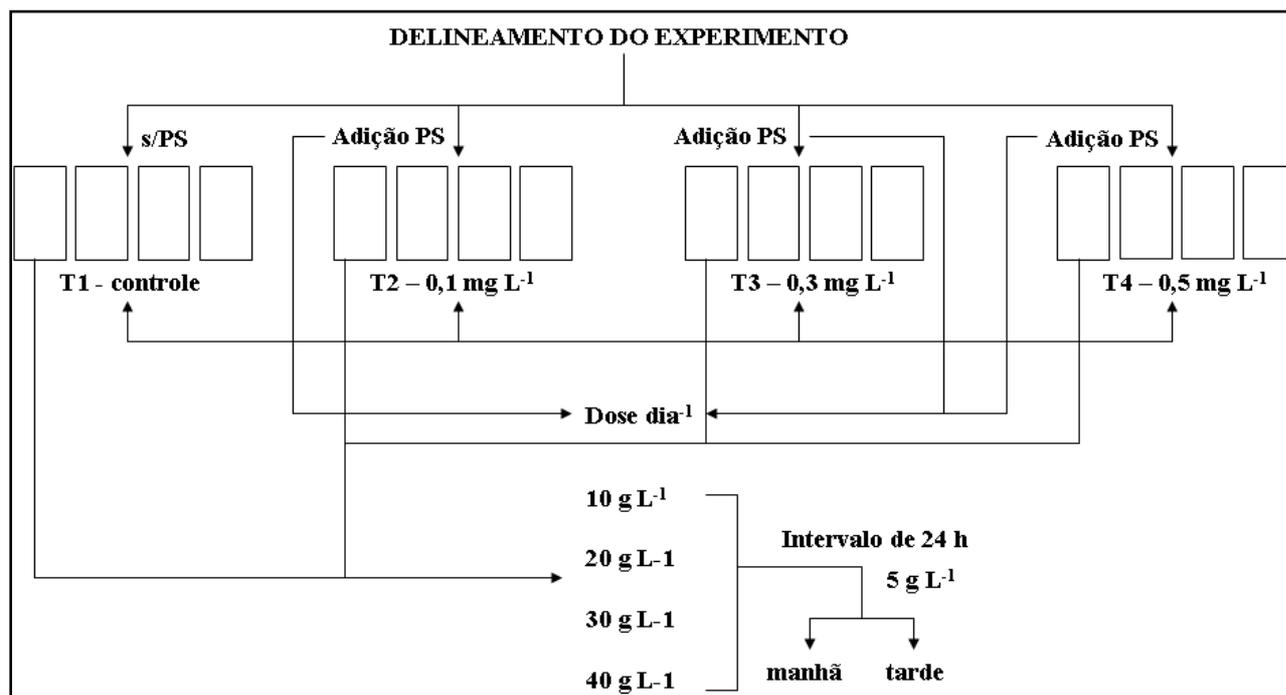


Figura 1. Delineamento experimental durante o período de administração dos PS (8 dias) e aclimação dos alevinos revertidos de *Oreochromis niloticus* à diferentes salinidades (4 dias).

Durante o período de aclimação, as trocas parciais de água e as administrações dos PS foram suspensas. O ajuste diário da salinidade foi realizado com sal sólido utilizando água do próprio cultivo com auxílio de um refratômetro ATAGO. A temperatura (°C) e a concentração de oxigênio dissolvido (mg/L) da água foram monitoradas duas vezes por semana (Oxímetro Bernauer Aquacultura, modelo YSI F-1550A). O pH também foi determinado com auxílio de um medidor de bancada (Marconi, modelo MAPA 200). Os dados de sobrevivência e ganho de peso foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando foi observada diferença entre as médias, aplicou-se o teste de comparação múltipla de Bonferroni ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

SOBREVIVÊNCIA

Ao submeter alevinos revertidos de *O. niloticus* a diferentes salinidades foram observadas diferenças significativas na mortalidade nas concentrações de 20 e 30 mg/L de sal (Figuras 2B e 2C) comparadas as demais salinidades utilizadas (Figuras 2C e 2D) ($p < 0,05$). Uma sobrevivência de 100% durante as primeiras 24 horas de aclimação dos animais submetidos a 10 mg/L de sal foi observada no T₂ (0,1 mg/L) (Figura 2A), quando não resultou em

mortalidades entre as repetições ($p > 0,05$). No entanto, a taxa de mortalidade aumentou em todos os tratamentos quando o gradiente salino na água de cultivo alcançou a faixa de 20 a 30 mg/L, mesmos aqueles animais tratados nas concentrações 0,3 e 0,5 mg/L (T_3 e T_4) de PS (Figuras 2B e 2C). Nos tratamentos T_3 e T_4 , a sobrevivência final foi superior ao T_1 e T_2 , mas não diferiu comparada ao controle ($p \geq 0,05$). No entanto, a sobrevivência dos animais mostrou uma tendência de melhora com o aumento da dose de PS administrada ao final do experimento (Figura 2E).

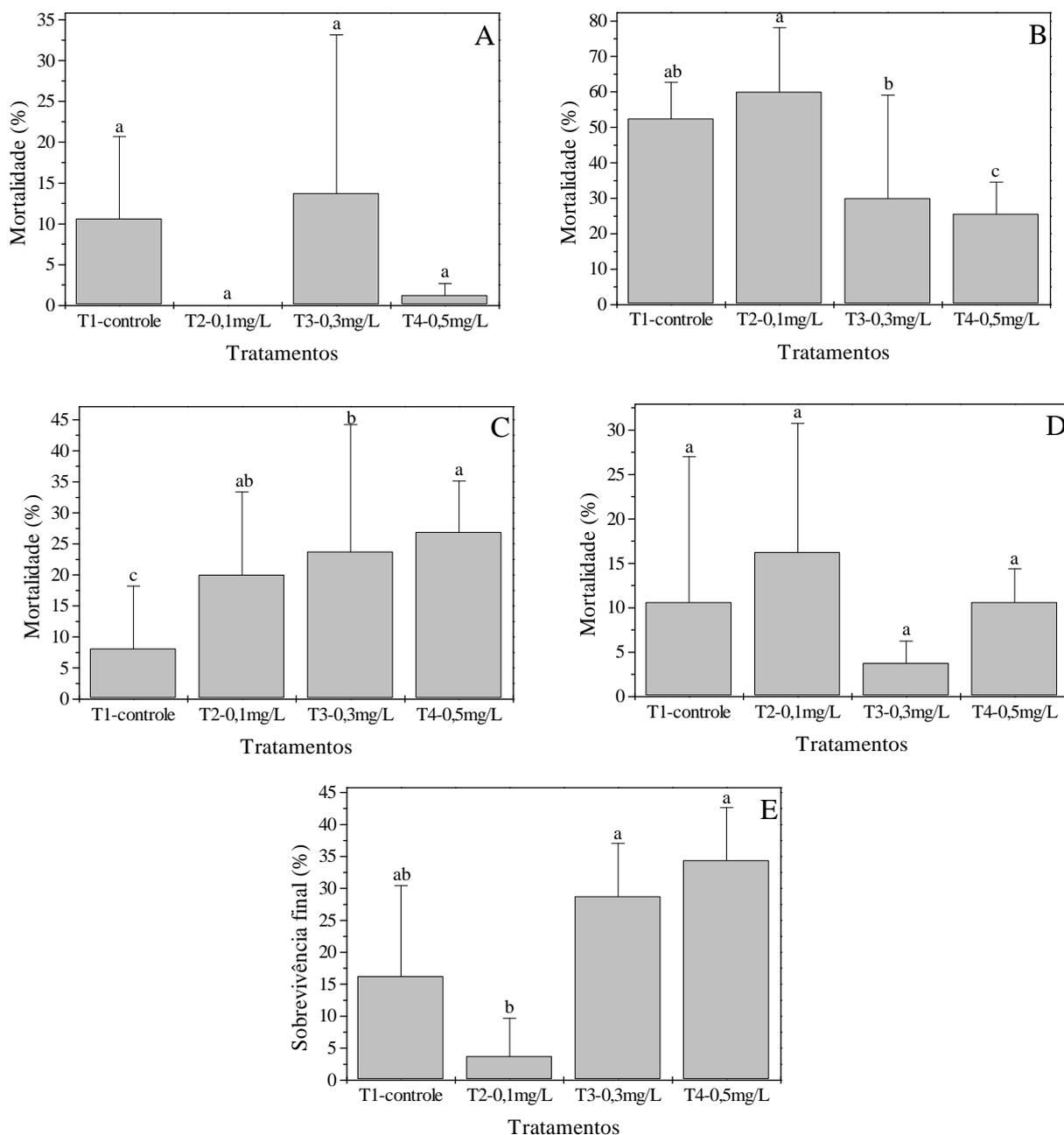


Figura 2. Mortalidade (A; B; C e D) e sobrevivência final (E) dos alevinos revertidos de *O. niloticus* nas diferentes salinidades testadas (10-A; 20-B; 30-C e 40-D g/L de sal) no experimento.

A larvicultura de peixes é geralmente acompanhada por elevadas taxas de mortalidade e a maior parte dessas mortes está relacionada com o surgimento de enfermidades. Neste contexto, diversos estudos reportam o emprego de imunostimulantes na aquicultura. A administração por imersão do levamisol no cultivo da truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) Jeney & Anderson (1993) relataram um aumento na sobrevivência dos animais quando desafiados a bactéria *Aeromonas salmonicida*. A realização de banhos de imersão em camarões *L. vannamei* com PS extraídos de uma microalga cianofíceia resultaram na melhoria de alguns parâmetros imunológicos, tais como a atividade da enzima superóxido dismutase e a geração do ânion superóxido (Campa-Córdova *et al.*, 2002). Rodrigues (2006) observou que a administração prévia de 1,0 mg/L, por duas semanas, dos PS da alga marinha vermelha *H. pseudofloresia* na água de cultivo do *L. vannamei*, foi capaz de reduzir significativamente a taxa de mortalidade dos animais, quando submetidos a condições adversas de estresse (5 dias).

Segundo Fu *et al.* (2007), ao estudarem diferentes vias de administração (oral, imersão e injeção) de PS da alga marinha vermelha *Gelidium amansii*, foi observado um aumento da habilidade imune e resistência em camarões *L. vannamei*, quando expostos a bactéria *Vibrio alginolyticus*. A utilização por via oral apresentou um melhor efeito após duas semanas de administração. Recentemente, Choi *et al.* (2008) relataram um aumento na sobrevivência da enguia *Anguilla japonica* infectada com a bactéria *Aeromonas hydrophila*, quando incorporado o extrato da planta *Viscum album* na dieta dos animais. No décimo quarto dia pós-infecção, a sobrevivência dos animais chegou a 80% quando tratados com 1%, promovendo também um aumento na atividade enzimática, fagocítica e na produção de ânion superóxido.

Neste estudo, os animais tratados com maiores concentrações (0,3 e 0,5 mg/L) de PS extraídos de *L. variegata* demonstraram resistência quando expostos as diferentes salinidades durante o processo de aclimação, porém os referidos tratamentos não diferiram comparados ao grupo controle ($p > 0,05$) (Figura 2E).

Alguns trabalhos relatam que a administração de PS em pequenas doses, administrações prolongadas e/ou a frequência de aplicação desses compostos são possivelmente pré-requisitos para habilitar o sistema imune em bioensaios utilizando organismos aquáticos (Farias *et al.*, 2004; Rodrigues, 2006; Lima, 2007; Rodrigues *et al.*, 2009a). Barroso *et al.* (2007) relataram um aumento na sobrevivência de pós-larvas do camarão *L. vannamei* através da realização de três banhos de imersão, em intervalos de 24 h, contendo 1,0 µg/L de PS da rodofíceia *B. occidentalis* durante 8 dias de cultivo dos animais.

Desta forma, a maior sobrevivência dos tratamentos T₃ e T₄ em relação ao T₁ e T₂ (Figura

2E) sugere a utilização prévia de doses de PS mais elevadas na aclimação de alevinos de *O. niloticus*. A utilização de outras estratégias de administração dessas macromoléculas (Farias *et al.*, 2004; Bricknell & Dalmo, 2005; Fu *et al.*, 2007) também poderá contribuir na melhoria da sobrevivência dos animais após aclimação.

A maior mortalidade observada durante a faixa de 20 a 30 g/L de sal na água de cultivo dos animais vem a justificar com alguns outros relatos envolvendo aclimação de tilápias. Segundo Kubitza (2005), salinidades em torno de 10 a 12 g/L são consideradas isoósmóticas para as tilápias, sendo o crescimento dos peixes semelhante ao observado em água doce. Tal propriedade possa assim reforçar a maior resistência dos alevinos observada durante o início deste trabalho (Figura 2A). No entanto, salinidades em torno de 32 g/L, afetam a capacidade reprodutiva de *O. niloticus*, bem como a estratégia de adaptação utilizada, a idade dos peixes no momento da transferência e a exposição de ovos e pós-larvas à água de maior salinidade, prejudicando a tolerância das tilápias durante a aclimação (Kubitza, 2000). Segundo Sakai (1999), o emprego de imunostimulantes pode resultar em uma maior resistência dos animais aquáticos durante eventos relacionados ao estresse, proporcionando assim uma melhoria na sobrevivência.

BIOMASSA FINAL VIVA E GANHO DE PESO

A biomassa final dos tratamentos T₃ e T₄ (0,3 e 0,5 mg/L) diferiu em relação ao T₂ ($F = 8,057$; $p < 0,05$), mas não em relação ao T₁ (controle) ($p > 0,05$) (Figura 3A). Por outro lado, quando o ganho de peso dos animais foi avaliado (Figura 3B), o tratamento T₄ diferiu em relação ao T₁ (controle) e T₂ (0,1 mg/L), respectivamente ($F = 5,403$; $p < 0,05$). O tratamento controle não obteve nenhum ganho de biomassa após o período de aclimação dos animais.

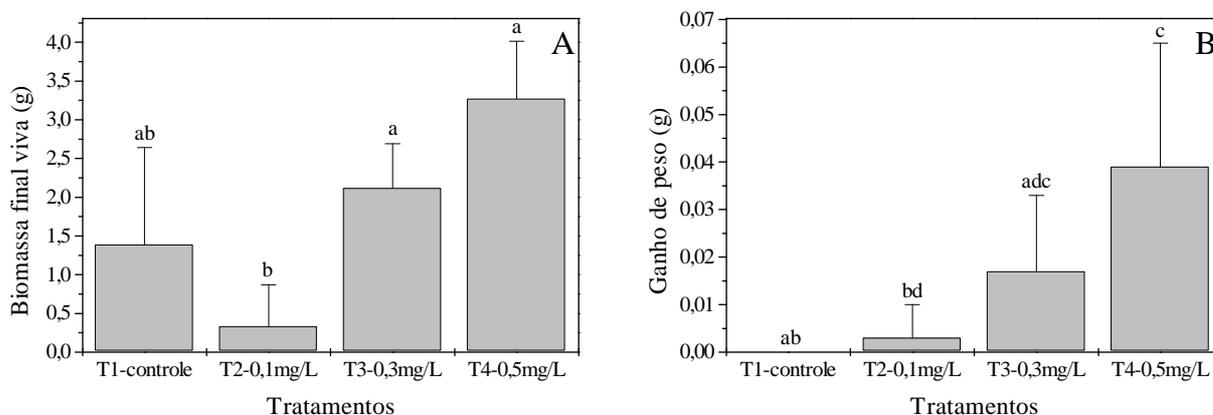


Figura 3. Biomassa final viva (A) e ganho de peso (B) dos alevinos revertidos de *O. niloticus*, por tratamento, ao final do experimento.

Alguns trabalhos reportam estímulos relacionados com o uso de imunostimulantes, promovendo, em alguns casos, ganho de peso. Riviera *et al.* (2002) relataram que o incremento de 10% do extrato da alga marinha parda *Macrocystis pyrifera* na dieta de camarões *L. vannamei* resultou em uma maior biomassa final ao final de 25 dias de administração. Farias *et al.* (2004) reportaram que diferentes doses de PS (0,05; 0,1 e 0,2 mg/g) da alga marinha vermelha *B. occidentalis* na ração de reversão de tilápias resultaram em um melhor ganho de biomassa, quando os animais receberam 0,1 mg/g de peso vivo. A incorporação de 125-300 mg do β -caroteno/kg na dieta do camarão *P. monodon* extraído de microalgas (*Dunaliella* sp) resultou em uma melhoria no ganho de peso dos animais em relação ao controle (Supamattaya *et al.*, 2005).

Montero-Rocha *et al.* (2006) observaram um aumento no crescimento relativo em peso de camarões adultos (*L. vannamei*) alimentados com “ergosan”, um produto de origem algal, durante 15 dias experimentais. Ao final do cultivo, a administração do composto também resultou em um aumento significativo dos hemócitos e no comprimento final dos animais em relação ao controle.

Neste trabalho, o ganho de peso dos peixes tratados com PS (*L. variegata*) administrados na água de cultivo dos animais foi significativa e dose dependente (Figura 3B). A utilização de 0,5 mg/L (T₄) de PS antes da aclimação dos alevinos (*O. niloticus*) também proporcionou um comportamento mais ativo e maior apetite alimentar dos peixes em relação aos animais dos tratamentos T1 e T2, quando observou-se natação errática e maior desinteresse pelo alimento ofertado nos animais destes tratamentos.

Os efeitos dos PS na aclimação de alevinos revertidos de tilápias (*O. niloticus*) observados neste experimento sugerem que esses polissacarídeos reagiram com o sistema imunológico dos animais. Rodrigues (2006) observou que, na realização de bioensaios utilizando diariamente PS (1,0 mg/L) extraídos da alga marinha vermelha *H. pseudofloresia* na água de cultivo, esses compostos foram capazes de prevenir a mortalidade de camarões adultos (*L. vannamei*), enquanto na administração desses mesmos polissacarídeos, porém a cada 48 horas, na água de cultivo durante o desenvolvimento de pós-larvas a juvenis (*L. vannamei*), observou-se uma maior padronização no ganho de peso e consumo alimentar dos animais comparados aqueles do grupo controle durante o período de aplicação do composto, quando tratados com 1,0 mg/L de PS. No entanto, os animais não demonstraram resistência quando induzidos ao estresse (Rodrigues *et al.*, 2009a).

A utilização dos PS obtidos da feofíceia *Spatoglossum shroederi* no desenvolvimento do *L. vannamei*, Lima (2007) relatou que a utilizaram de 2,0 mg/L de PS na água de cultivo aumentou

a taxa de sobrevivência dos animais, sob condições de hipoxia. Recentemente, Rodrigues *et al.* (2008), utilizando PS (0,1 mg/L) extraídos da rodofícea *S. filiformis* durante 12 dias consecutivos na água de cultivo de pós-larvas (*L. vannamei*), observou uma maior atividade e consumo alimentar dos animais, mesmo durante o período de indução ao estresse (6 dias).

Lopez *et al.* (2003) sugeriram que, na incorporação do β -glucano (polissacarídeo não-sulfatado) na dieta de juvenis do camarão *L. vannamei*, o composto foi degradado na glândula digestiva por β -glucanases para produzir energia após 40 dias de administração, permitindo o direcionamento de outras proteínas para o crescimento. Entretanto, neste caso, não existem relatos da ocorrência desses eventos com PS de algas marinhas.

Segundo Bachère (2000), o estudo da imunologia de camarões é considerado como um elemento chave para o estabelecimento de estratégias destinadas ao controle de doenças advindas da aquicultura intensiva. Assim, as pesquisas devem ser direcionadas para o desenvolvimento de ensaios com o objetivo de avaliar e monitorar o estado imunológico destes animais submetidos a cultivos sob condições de estresse. Segundo Tavares-Dias & Moraes (2004), os autores relatam que a análise dos padrões sanguíneos são subsídios importantes no diagnóstico e prognóstico de condições mórbidas em populações. Uma forma de avaliar o estado de saúde de peixes é o diagnóstico dos tecidos hematopoéticos pela presença de centros de melanomacrófagos ou agregados de macrófagos no fígado, baço e no rim. Esses centros possuem função imunológica como respostas humoral e inflamatória e ainda estocam, destroem, ou detoxificam substâncias exógenas e endógenas.

Um aumento da atividade fagocítica e a produção de ânion superóxido foram estimulados pela administração da microalga *Spirulina platensis* incorporada na dieta da carpa comum *Cyprinus carpio* (Watanuki *et al.*, 2006). Os imunoestimulantes são considerados como as melhores ferramentas na indução do crescimento e sobrevivência em camarões (Azad *et al.*, 2005), sendo a melhor alternativa durante o monitoramento de doenças infecciosas, ocasionadas pelo estresse, que agridem o sistema imune em camarões (Alday-Sanz, 2007). Portanto, a administração de doses adequadas de imunoestimulantes é recomendada de maneira regular a resposta imunológica dos organismos aquáticos, melhorando o estado de saúde, quando o risco de doenças é mais elevado (Bricknell & Dalmo, 2005).

VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS

Durante o experimento, a temperatura ficou em torno de $28,40 \pm 0,27$ °C (média \pm DP), o pH foi de $7,28 \pm 0,35$ e o oxigênio dissolvido atingiu valores de $4,10 \pm 0,30$ mg/L. Desta forma,

todas as variáveis mantiveram-se dentro dos valores recomendados para o cultivo da tilápia do Nilo *O. niloticus*.

CONCLUSÕES

A administração prévia diária dos polissacarídeos sulfatados, extraídos da alga marinha parda *Lobophora variegata*, na água de cultivo durante aclimação de alevinos revertidos de tilápias (*Oreochromis niloticus*), não resultou no aumento da taxa de sobrevivência dos peixes ($p > 0,05$). Porém, a aplicação de pequenas quantidades do composto proporcionou significativo aumento no ganho de peso e melhoria no quadro aparente de saúde dos animais, quando expostos ao aumento de salinidade. Assim, a realização de novos bioensaios utilizando esses polissacarídeos seriam recomendados de forma a avaliar seus efeitos em concentrações maiores do composto de forma a melhorar a taxa de sobrevivência dos animais, quando expostos à salinidades mais elevadas durante técnicas de transferência, proporcionando assim, menores perdas na produção para o cultivo da espécie em regiões costeiras. Outras estratégias de administração utilizando esses polissacarídeos também seriam indicadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alday-Sanz, V. (2007). Why shrimp cannot be vaccinated?. *Global Aquaculture Advocate*, 10(1): 84.
- Azad, I.S. *et al.* (2005). Routes of immunostimulation vis-a-vis survival and growth of *Penaeus monodon* postlarvae. *Aquaculture*, 248(1): 227-234.
- Barroso, F.E.C. *et al.* (2007). Efeito do polissacarídeo sulfatado extraído da alga marinha vermelha *Botryocladia occidentalis* nas pós-larvas do camarão *Litopenaeus vannamei*. *Revista Ciência Agronômica*, 38(1): 58-63.
- Barton, B.A. *et al.* (2003). Plasma cortisol and chloride stress responses in juveniles Walleyes during capture, transport, and stoking procedures. *North American of Journal Aquaculture*, 65: 210-219.
- Barton, B.A. & Zitzow, R.E. (1995). Physiological responses of juveniles Walleyes to handling stress with recovery in saline water. *Programme of Fish-Culture*, 57: 267-276.
- Bachère, E. (2000). Shrimp immunity and disease control. *Aquaculture*, 191(1-3): 1-2.
- Bricknell, I. & Dalmo, R.A. (2005). The use of immunostimulants in fish larval aquaculture.

Fish & Shellfish Immunology, 19(5): 457-472.

Campa-Córdova, A. I. et al. (2002). Generation of superoxide anion and SOD activity in haemocytes and muscle of American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as a response to beta-glucan and sulfated polysaccharide. *Fish & Shellfish Immunology*, 12(4): 353-366.

Citarasu, T. et al. (2006). Influence of selected indian immunostimulant herbs against white spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes, *Fish & Shellfish Immunology*, 21: 372-384.

Choi, S.H. et al. (2008). Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Fish & Shellfish Immunology*, 24(1): 67-73.

Chotigeat, W. et al. (2004). Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp. *Aquaculture*, 233(1-4): 23-30.

Cleary, J.J. & Pankhurst, N.W. (2000). The effect of capture and handling stress on plasma steroid levels and gonadal condition in wild and farmed snapper *Pagrus auratus* (Sparidae). *Journal of World Aquaculture Society*, 31(4): 558-569.

Costa, F.H.F. et al. (2005). Enhancement of disease resistance against infectious myonecrosis virus (IMNV) of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* by sulfated polysaccharide extracts from the red seaweeds *Botryocladia occidentalis* and *Solieria filiformis*. Feira Nacional de Camarão. Suplemento 2005:25-32. Acessado em 24 de outubro de 2006 em <http://www.agriambi.com.br/Revista>.

Farias, W.R.L. et al. (2004). Enhancement of growth in tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*) by sulfated D-galactans extracted from marine algae. *Revista Ciência Agronômica*, 35 (especial): 189-195.

Farias, W.R.L., Nazareth, R.A. & Mourão, P.A.S. (2001). Dual effects of sulfated D-galactans from the red alga *Botryocladia occidentalis* preventing thrombosis and inducing platelet aggregation. *Thrombosis and Haemostasis*, 86(60): 1540-1546.

Fu, Y.W. et al. (2007). The immunostimulatory effects of hot-water extract of *Gelidium amansii* via immersion, injection and dietary administrations on white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish. & Shellfish Immunology*, 22(6): 673-685.

- Gomes, L.C. *et al.* (2003). Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *J. of World Aquaculture Society*, 34(1): 76-84.
- Hayashi, K., Hayashi, T. & Kojima, I. (1996). A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: *In vitro* and *ex vivo* evaluation of anti-herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 12(15): 1463-1471.
- Jeney, G. & Anderson, D. (1993). Enhanced immune response and protection in rainbow trout to *Aeromonas salmonicida* bacterin following prior immersion in immunostimulants. *Fish & Shellfish Immunology*, 3(1): 51-58.
- Kubitza, F. (2005). Tilápia em água salobra e salgada: uma boa alternativa de cultivo para estuários e viveiros litorâneos. *Revista Panorama da Aquicultura*, 15(88): 14-18.
- Kubitza, F. (2000). *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. Jundiaí: F. Kubitza.
- Lima, P. C. W. C. (2007). *Efeito dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha parda *Spatoglossum shröderi* sobre o aumento da resistência do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* submetido a situações de estresse*. [Dissertação Mestrado]. Fortaleza (CE): Universidade Federal do Ceará.
- López, N. *et al.* (2003). Physiological, nutritional and immunological role of dietary beta-1,3 glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture*, 224(1-4): 223-243.
- Montero-Rocha, A. *et al.* (2006). Immunostimulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following dietary administration of Ergosan. *Journal of Invertebrate Pathology*, 91(3): 188-194.
- Moreira, H.L.M. *et al.* (2001). *Fundamentos da Moderna Aquicultura*. Canoas: Ed. Ulbra.
- Neto, M.A.S., Lopes, J.P. & Oliveira, O.M. (2005). Produção de híbridos de tilápia: retocruzamento viabiliza o cultivo comercial de tilápias em tanques-rede sem a necessidade da reversão sexual. *Revista Panorama da Aquicultura*, 15(87): 27-31.
- Ono, E.A. & Kubitza, F. (2003). *Cultivo de peixes em tanques-rede*. Jundiaí: E. A. Ono.
- Popma, T.J. & Grenn, B.W. (1990). *Sex reversal of tilápia in Earthen ponds*. *International Center for Aquiculture*. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University Lowell T. Frobish, director Auburn University, Alabama Research and Development. Serie 35. September.

Riviera, G. *et al.* (2002). Inclusion de harina de kelp (*Macrosystis pyrifera*) em alimentos balanceados para camarón. CIVA, p. 244-252.

Rodrigues, J.A.G. (2006). *Atividade anticoagulante de galactanas sulfatadas de algas marinhas vermelhas do gênero Halymenia e seu efeito imunoestimulante no camarão marinho Litopenaeus vannamei* [Dissertação de Mestrado]. Fortaleza (CE): Universidade Federal do Ceará.

Rodrigues, J.A.G. *et al.* (2008). Avaliação dos efeitos da imersão de pós-larvas do camarão *Litopenaeus vannamei* em águas de cultivo com polissacarídeos sulfatados. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 3(2): 80-91.

Rodrigues, J.A.G. *et al.* (2009a). Cultivo de camarões tratados com polissacarídeos sulfatados da rodofícea *Halymenia pseudofloresia* mediante uma estratégia profilática. *Revista Ciência Agronômica*, 40(1): 71-78a.

Rodrigues, J.A.G. *et al.* (2009b). Extração e atividade anticoagulante dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Halymenia pseudofloresia*. *Revista Ciência Agronômica*, 40(2): 224-231.

Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172(1): 63-82.

Shrimpton, J.M., Zydlewski, J.D. & McCormick, S. (2001). The stress responses of juvenile American Shad to Handling and confinement is greater during migration in freshwater than in seawater. *Transactions of the American Fishing Society*, 130: 1203-1210.

Supamattaya, K. *et al.* (2005). Effect of a *Dunaliella* extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 248(1-4): 207-216.

Tavares-Dias, M. & Moraes, F.R. (2004). *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto: Marco Tavares-Dias.

Watanuki, H. *et al.* (2006). Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 258(1-4): 157-163.

Xue, J. *et al.* (2008). Effects of traditional Chinese medicine on immune responses in abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Fish & Shellfish Immunology*, 24(6): 752-758.

Zhang, H.J. *et al.* (2008). Chemical characteristics and anticoagulant activities of a sulfated polysaccharide and its fragments from *Monostroma latissimum*. *Carbohydrate Polymers*, 71(3): 423-434. ❀