

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**PRÓPOLIS NO DESEMPENHO PRODUTIVO DE JUVENIS DE PACU
CRIADOS EM TANQUE REDE E ARRAÇOADOS COM BAIXA E ALTA
FREQUÊNCIA ALIMENTAR**

LUCAS MIYABARA AGOSTINHO

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia
como parte das exigências para a
obtenção do título de mestre.

**BOTUCATU - SP
Agosto de 2010**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**PRÓPOLIS NO DESEMPENHO PRODUTIVO DE JUVENIS DE PACU
CRIADOS EM TANQUE REDE E ARRAÇOADOS COM BAIXA E ALTA
FREQUÊNCIA ALIMENTAR**

LUCAS MIYABARA AGOSTINHO

ORIENTADOR: Prof. Dr. RICARDO DE OLIVEIRA ORSI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia como parte das exigências para a obtenção do título de mestre.

**BOTUCATU - SP
agosto de 2010**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

A275p Agostinho, Lucas Miyabara, 1984-
Própolis no desempenho produtivo de juvenis de pacú criados em tanque rede e arraçoados com baixa e alta frequência alimentar / Lucas Miyabara Agostinho. - Botucatu : [s.n.], 2010
iii, 31 f. : tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2010
Orientador: Ricardo de Oliveira Orsi
Inclui bibliografia.

1. Pacú. 2. Própolis. 3. Frequência alimentar. I. Orsi, Ricardo de Oliveira. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: Considerações Iniciais

1. O Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>).....	02
2. Psicultura em tanque-rede.....	02
3. Estresse e Imunoestimulantes.....	03
4. Própolis.....	05
5. Frequência alimentar.....	07
6. Referências Bibliográficas.....	09

CAPÍTULO 2: Própolis no desempenho produtivo de juvenis de pacú (*Piaractus mesopotamicus*) criados em tanque rede e arraçoados com baixa e com alta frequência alimentar.

Resumo.....	15
Abstract.....	16
Introdução.....	17
Material e Métodos.....	18
Resultados.....	20
Discussão.....	22
Referências.....	24
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31

LISTA DE TABELAS

CAPITULO II: PRÓPOLIS NO DESEMPENHO PRODUTIVO DE JUVENIS DE PACU CRIADOS EM TANQUE REDE E ARRAÇOADOS COM BAIXA E ALTA FREQUÊNCIA ALIMENTAR

Tabela 1- Níveis de garantia do fabricante da ração	19
Tabela 2. Análise Bromatológica	19
Tabela 3- Peso inicial, final e ganho de peso médio (gramas) de pacus alimentados com dieta contendo ou não a presença de própolis (1 e 10 gramas por quilo de ração), em baixa e alta frequência alimentar (4 ou 24 vezes ao dia). Os resultados representam a média e o respectivo desvio-padrão	21
Tabela 3- Valores de atividade (μ /g muc) de sacarase e maltase em função dos tratamentos com ausência ou presença de própolis (1 e 10g/kg de ração) na dieta de pacus arraçoados com baixa ou alta frequência alimentar (4 ou 24 vezes ao dia). Os dados representam a média e os respectivos desvio-padrão	22

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. O Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

O Pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characiformes; Characidae), representante da superordem Ostariophysi, é um peixe nativo das regiões neotropicais das bacias dos rios Paraná e Paraguai. Alimenta-se principalmente de folhas, frutos e resíduos vegetais, sobretudo na enchente e, raramente, de restos de peixes, crustáceos e/ou moluscos na vazante, mostrando que se trata de uma espécie herbívora com preferência frugívora (URBINATI; GONÇALVES, 2005).

Como a grande maioria das espécies fluviais brasileiras, o Pacu necessita de longas migrações rumo às nascentes dos rios para se reproduzir, sendo esta migração chamada “Piracema” (CASTAGNOLLI; CYRINO, 1986). Entretanto, por meio de reprodução induzida pode-se obter grandes quantidades de larvas e, posteriormente, criá-las em laboratório com altas taxas de sobrevivência até a fase de alevinos (BOCK; PADOVANI, 2000).

O Pacu se adapta facilmente à alimentação artificial e a piscicultura intensiva, apresentando ganho de peso elevado e carne branca de excelente qualidade para alimentação humana (CASTAGNOLLI; CYRINO, 1986; ABIMORAD *et al.*, 2007). Devido a essas características, se tornou o segundo peixe mais cultivado no Brasil, principalmente nas regiões sul, sudeste e centro-oeste (INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE, 2008). Porém, seu cultivo intensivo o coloca em uma condição extremamente estressante que predispõem os peixes à doenças bacterianas e parasitárias (URBINATI; CARNEIRO, 2004).

O sucesso na criação do Pacu depende da implantação de boas práticas de manejo onde se destacam o controle da qualidade da água, a realização de quarentena na aquisição de novos lotes, fornecimento de alimentação de qualidade e balanceada, garantindo a saúde dos animais e, conseqüentemente, a prevenção de doenças.

2. O Tanque-rede

A piscicultura em tanque-rede oferece excelentes resultados em relação a produtividade/unidade de espaço devido a estrutura dos tanques possibilitar alta taxa de renovação de água que supre a elevada demanda por oxigênio e remove dejetos produzidos. Também melhora o controle e monitoramento do processo de cultivo, facilita o

processo de despesca e tem menor custo de implantação em comparação com sistemas de cultivo intensivo em viveiros escavados e Raceway (BEVERIDGE, 2004).

A despesca no tanque-rede é bastante simples e limpa, bastando levantá-lo até que este permaneça com uma lâmina de água de 30 cm, recolhendo em seguida o pescado com um puçá. O resultado é muito mais limpo e menos estressante para os peixes do que na despesca em um tanque convencional.

Uma característica muito importante de se considerar nesse sistema quando se estuda aspectos sanitários é que a utilização de águas da União, apesar de baratear o custo de produção, deixa o sistema todo dependente de variáveis ambientais como variações de temperatura, chuva, acúmulo de matéria orgânica, poluição provenientes da piscicultura e de outras atividades humanas (SIMÕES, 2007).

3. Estresse e Imunoestimulantes

Apesar de apresentar vantagens quanto ao custo e produtividade, o cultivo em tanques-rede pode expor os animais a agentes estressores, agudos (injúrias física ou manipulação dos animais) ou crônicos (qualidade da água e densidade de estocagem inadequadas). A resposta ao estresse agudo é da ordem comportamental e fisiológica, e a crônica ocorre em condições desfavoráveis e contínuas, o que acarreta a perda da homeostase fisiológica, reduzindo a capacidade reprodutiva de crescimento e promovendo quadro de imunodeficiência (URBINATI; CARNEIRO, 2004).

O estado de estresse fisiológico ser proveniente de varias fontes, como por exemplo, a manipulação dos animais, o emprego de alta densidade de estocagem, o transporte, interações biológicas, qualidade da água e manejo de alimentação (BARTON, 1988; ADAMS, 1990; WEDEMEYER *et al.*, 1990).

Durante o transporte de peixes entre propriedades, entre tanques ou em biometrias, os peixes sofrem diversas injúrias que resultam em perda de escamas e muco e até mesmo dano ao epitélio branquial devido à argila em suspensão, abrindo caminho para infecções por bactérias e fungos (MOYLE; CECH, 1998).

As densidades de estocagem inadequadas podem induzir estresse aos animais, devido principalmente à agressividade e perseguição social entre os peixes (BARCELLOS *et al.*, 1999). Em densidades elevadas ocorre rápida deterioração do meio ambiente aquático por excesso de matéria orgânica, fósforo e nitrogênio que propiciam o desenvolvimento de microorganismos patógenos (KUBITZA, 1999).

Contudo os corpos d'água mais adequados para a instalação de projetos de piscicultura em tanque-rede são os lagos, as represas e as barragens e devido as suas dimensões é impossível corrigir os parâmetros físico-químicos da água em caso de

deterioração do meio ambiente e torná-la mais adequada ao cultivo por meio de técnicas como aeração, adubação ou calagem.

Esses estímulos adversos influenciam o estado fisiológico normal dos peixes e geram respostas que dependendo do tipo, duração e severidade, podem ocorrer em três fases. A primeira é a reação de alarme, percepção da situação e início das manifestações orgânicas; a segunda é o estágio de adaptação e resistência aos efeitos negativos dos estímulos estressores. Durante a segunda fase, que é a adaptativa, o organismo tende a compensar as condições adversas aumentando a utilização de reservas energéticas (LIMA *et al.*, 2006). Efeitos adaptativos por períodos prolongados levam ao processo de exaustão da capacidade adaptativa e iniciam-se os efeitos terciários ou de longo prazo.

A resposta terciária é marcada pela diminuição da resistência dos peixes às doenças, pois ocorre uma diminuição no número de leucócitos, ocorrendo linfocitopenia e neutrofilia. A redução do número de linfócitos é considerada como resposta de estresse, visto que o cortisol atua como bloqueador da produção e secreção de interleucinas, que estimulam a linfoproliferação (CHEN *et al.*, 2002).

Representa efeitos terciários do estresse a diminuição do crescimento (WEIL *et al.*, 2001), resistência às doenças (ROBERTSON *et al.*, 1987) e capacidade reprodutiva (MORGAN *et al.*, 1999). Quando a capacidade de regular os mecanismos homeostáticos se esgota, pela duração dos estímulos, a saúde dos peixes pode estar comprometida (EDDY, 1981).

A diminuição da resistência à doenças nas espécies criadas em cativeiro, principalmente as de origem infecciosa, têm considerável importância, pois limitam o potencial produtivo e reprodutivo dos peixes e a rentabilidade comercial das empresas que exploram o ramo. Os modos de infecção mais comuns são pela ingestão de bactérias, através da pele por ferimentos provocados por traumas ou parasitos e brânquias (PAVANELLI *et al.*, 1998).

Para tratar infecções de agentes etiológicos bacterianos foram usados nos últimos 20 anos vários tipos de antibióticos como a penicilina, a cefalosporina e amoxicilina. Entretanto, o uso indiscriminado destes antimicrobianos promoveu a resistência de patógenos, como a *Aeromonas hydrophila* que se tornou resistente a antibióticos β -lactâmicos, principalmente a amoxicilina. Este quadro de resistência a fármacos é um problema para a piscicultura (AOKI, 1992). Uma alternativa aos antibióticos são os imunoestimulantes que aumentam a resistência a doenças, principalmente pelo aumento dos mecanismos de defesa não específicos (SAKAI, 1999).

Ultimamente, a aquicultura vem aumentando o interesse do uso de imunoestimulantes para prevenir o aparecimento de doenças e melhorar o bem-estar animal, principalmente, em sistemas intensivos de produção e nas fases iniciais do cultivo,

quando os peixes estão mais susceptíveis a doenças (SAKAI, 1999). O uso desses tem sido demonstrado na aquicultura moderna, e pisciculturas utilizam imunoestimulantes de amplo alcance, que podem ser purificados (quitina, glucanos, dentre outros) ou não (microorganismos e produtos naturais) (SAKAI, 1999). Essa última categoria tem recebido atenção especial, já que combina baixos custos com a capacidade de serem facilmente incorporados na dieta e apresentarem baixo impacto ambiental.

Dentre os produtos naturais com atividade imunoestimulante, a própolis pode ser importante ferramenta para a garantia do bem-estar de peixes criados em sistemas intensivos de produção, como tanques-rede.

4. Própolis

Os produtos apícolas foram utilizados ao longo da história da medicina pelas civilizações greco-romana, chinesa, tibetana e egípcia e muitos destes produtos se mostram efetivos até hoje para curar ou prevenir doenças em pessoas ou animais. Um destes produtos de utilização milenar é a própolis (GHISALBERTI, 1979).

Hipócrates, pensador grego, por exemplo, se referia a própolis como cicatrizante interno e externo. Plínio, historiador romano, utilizava a própolis como medicamento capaz de reduzir inchaços e aliviar dores (IOIRISH, 1982).

No Brasil, o histórico de produção de trabalhos científicos se inicia em 1984 com trabalho comparando a própolis e antibióticos na inibição de *Staphylococcus aureus*. Atualmente, o Brasil se destaca na produção e comércio de própolis e possui importante produção científica no assunto (PEREIRA *et al.*, 2002).

A própolis é um material resinoso de consistência viscosa elaborado pelas abelhas *Apis Mellifera* L., que coletam matéria-prima de diversas partes de plantas como brotos, cascas e exsudatos de árvores, transformando-as dentro da colméia pela adição de secreções salivares e cera (MARCUCCI, 1995). Sua coloração é dependente da sua procedência e pode ser creme, verde, amarela, vermelha, marrom escura; algumas amostras podem ter consistência friável e dura enquanto que outras são elásticas e viscosas (GHISALBERTI, 1979).

As abelhas utilizam a própolis principalmente para selar aberturas na colméia, o que dificulta a entrada de inimigos naturais além de contribuir com a manutenção da temperatura (em torno de 35°C no interior do ninho). Outro local onde a própolis é encontrada é na parede de cada célula hexagonal do favo, não apenas endurecendo, mas também atribuindo um ambiente asséptico a esta. A própolis também é usada pelas abelhas para mumificar carcaças de invasores que morrem dentro da colméia e são muito pesados para serem

retirados pelas abelhas, o que impede que esses putrefeçam no interior do ninho (GHISALBERTI, 1979).

As técnicas de exploração da própolis seguem quase sempre o mesmo princípio, que é o estímulo à produção por meio da abertura de frestas nas colméias. As aberturas alteram o equilíbrio térmico no interior do ninho, comprometem o fluxo das informações químicas e expõem as abelhas adultas, crias e alimento estocado em condições indesejadas. Desta forma, as abelhas produzem própolis para normalizar as condições desejadas de temperatura, comunicação e defesa.

A produção de própolis no Brasil é estimada em torno de 100 toneladas anuais, sendo grande parte destinada à exportação, tanto na forma bruta como em produtos manufaturados (TOLEDO, 1997). A própolis brasileira é uma das melhores em qualidade se comparada aos demais países produtores, devido a diversidade da flora brasileira, alcançando elevados preços no comércio exterior e representando importante fonte de renda para o apicultor (BREYER, 1996).

Sua composição contém 50 - 60% de resinas e bálsamos, 30 - 40% de ceras, 5 - 10% de óleos essenciais, 5% de grão de pólen, além de microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês e pequenas quantidades de vitaminas B1, B2, B6, C e E (BURDOCK, 1998; WOISKY *et al.*, 1998; PARK *et al.*, 2002; MENEZES 2005; FUNARI e FERRO, 2006).

A determinação de sua composição química está relacionada com a origem botânica, condições climáticas e geográficas do local. Por exemplo, a própolis europeia contém principalmente ácidos fenólicos e flavonóides (BANKOVA *et al.*, 2002). Já a própolis brasileira contém 3-prenil-4-hidroxicinâmico e o 6-propenóico-2,2-dimetil-2H-1-benzopirano (BANSKOTA *et al.*, 1998); porém, a diversidade de flora no Brasil é grande e a composição varia entre as regiões.

Essa variedade de componentes químicos faz com que a própolis tenha várias propriedades biológicas e terapêuticas. Estudos atuais indicam que a própolis apresenta propriedades imunomoduladora (ORSI *et al.*, 2000), antitumoral (ORSOLIC *et al.*, 2003), antioxidante (ISLA *et al.*, 2001), antibacteriana (ORSI *et al.*, 2005; ORSI *et al.*, 2007; MOHAMMADZADEH *et al.*, 2007; PACKER; LUZ, 2007), entre outras.

Sua atividade antibacteriana é atribuída principalmente à flavonona pinocembrina, ao flavonol galagina e ao éster feniletil do ácido caféico, com mecanismo de ação baseado provavelmente na inibição do RNA-polimerase bacteriano (UZEL, 2005). Outros flavonóides, como o ácido caféico, ácido benzóico, ácido cinâmico, agem na membrana ou parede celular do microorganismo, causando danos funcionais e estruturais (SCAZZOCCHIO *et al.*, 2005).

A atividade antibacteriana da própolis é maior contra as bactérias Gram positivas, devido aos flavonóides, ácidos e ésteres aromáticos presentes na resina, os quais atuam sobre a estrutura da parede celular desses microrganismos por um mecanismo de ação ainda não elucidado (BANKOVA *et al.*, 1999; MARCUCCI *et al.*, 2001). As Gram-negativas possuem parede celular quimicamente mais complexa e teor lipídico maior, o que pode explicar essa maior resistência (VARGAS *et al.*, 2004).

Sua atividade imunomodulatória foi observada com o aumento da atividade das células natural killer não aderentes do baço em ratos tratados com extrato de própolis (SFORCIN *et al.*, 2002), por induzir discreto aumento na liberação de H₂O₂ por macrófagos (ORSI *et al.*, 2000), controle de crescimento tumoral em modelos experimentais com derivados hidrossolúveis de própolis, ácido caféico, éster feniletil do ácido caféico e quercetina (ORSOLIC *et al.*, 2004). SY *et al.* (2006) demonstraram que o tratamento com extrato de própolis atenua as inflamações das vias aéreas em ratos, provavelmente por sua habilidade em modular a produção de citocina.

Pesquisas feitas sobre a adição de extrato de própolis na dieta indicaram que este melhorou a resposta imune não específica dos peixes e reduziu a mortalidade de *Myxocyprinus asiaticus* infectados com *Aeromonas hydrophila* em 35% em relação ao grupo controle (ZHANG *et al.*, 2009). O extrato de própolis também se mostrou eficiente quanto à melhora de desempenho de ganho de peso e conversão alimentar em *Oreochromis niloticus* (ABD-EL-RHMA, 2009), quando comparado a dietas sem a adição do extrato.

Cuesta *et al.* (2005) estudaram os efeitos imunomoduladores da própolis em *Sparus auratus* e encontraram ligeiro aumento da resposta imune ao nível de fagocitose e citotoxicidade. Quando utilizada como adjuvante em vacinas contra *Aeromonas hydrophila*, em carpas (*Carassius auratus gibelio*), mostrou-se capaz de melhorar a atividade fagocítica em aproximadamente 15% e a sobrevivência em 17%, quando expostas ao patógeno, em relação a carpas inoculadas com vacinas sem própolis (CHU, 2006).

Também foi observado efeito positivo do extrato alcoólico de própolis no ganho de peso e no ciclo da metamorfose de girinos de rã touro, *Rana catesbeiana*. O grupo leucocitário mais influenciado pela própolis nesse experimento foram os monócitos (ARAUCO *et al.*, 2007).

5. Frequência Alimentar

A frequência do fornecimento do alimento é fator importante dentro do manejo alimentar por estimular o peixe a procurar pelo alimento em momentos pré-determinados, podendo contribuir para melhorar a conversão alimentar e o ganho de peso (SOUSA *et al.*,

2006). O número adequado de tratamentos contribuiu ainda para a redução do desperdício de alimento, garantindo a qualidade da água e reduzindo os custos de produção.

Um dos fatores que determinam a frequência alimentar dos peixes é o estágio de desenvolvimento dos animais, sendo que peixes jovens (pós larvas e alevinos) apresentam maior atividade metabólica e necessitam de maiores frequências de arraçoamento em relação aos animais adultos (MURAI; ANDREWS, 1976).

Outro fator determinante é a espécie dos peixes e suas características morfológicas e hábitos alimentares. Os onívoros com estômago pequeno como a tilápia, procuram o alimento mais frequentemente por apresentarem limitação na capacidade de armazenamento de alimento. Outra característica das tilápias que deve ser considerada é o fato delas se alimentarem à noite, fator que se explorado pode levar a taxa de crescimento ainda melhor (SOUSA *et al.*, 2006).

Já as espécies carnívoras e algumas onívoras possuem estômago grande e podem ingerir grande quantidade de alimentos em um único momento, mantendo-se saciados por um longo período (TUCKER; ROBINSON, 1991). O efeito da frequência alimentar no crescimento e consumo do peixe pode variar de espécie para espécie. No salmão do atlântico (*Salmo salar*) houve aumento no consumo de alimento e melhor crescimento associado ao aumento na frequência alimentar (THOMASSEN; FJAERA, 1996). Entretanto, em juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen*, foi comparado o fornecimento automático e contínuo de alimento com o fornecimento manual duas vezes por dia e não foi observada diferença no crescimento de ambos os tratamentos (CARNEIRO; MIKOS, 2005).

A frequência de arraçoamento adequada pode levar também a menor variação no tamanho entre os peixes, diminuindo perdas que seriam gastas com a triagem (TUCKER; ROBINSON, 1991), processo este, estressante para o animal levando a morte de muitos, além de ser um dos processos mais trabalhosos em uma piscicultura de tanque-rede.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho é observar a interação entre a própolis e diferentes frequências alimentares no desempenho zootécnico e nas enzimas digestivas de juvenis de Pacu criados em tanque-rede.

Como normas do curso de pós-graduação em Zootecnia, a presente dissertação será dividida em capítulos, sendo:

Capítulo II: Própolis no desempenho produtivo de juvenis de pacu criados em tanque-rede e arraçados com baixa e alta frequência alimentar. O artigo será publicado na revista *Acta Scientiarum Animal Sciences*, de acordo com suas normas de publicação.

REFERÊNCIAS

- ABD-EL-RHMA, A. M. M. Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* **Fish & Shellfish Immunology**, v. 27, n. 3, p. 454-459, Sept. 2009.
- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J.; URBINATI, E. C. Growth and metabolism of Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles fed diets containing different protein, lipid, and carbohydrate levels. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 1, p. 36-44, 2007.
- ADAMS, S. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. In: ADAMS S. M. (Ed.). **Biological indicators of stress in fish**. Bethesda: American Fisheries Society, 1990. p. 1-8. (American fisheries symposium, 8).
- AOKI, T. Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan. In: SHARIFF, M.; SUBSIGHE, R. P.; ARTHUR, J. R. (Eds.). **Diseases in Asian aquaculture: fish health section**. Manila: Asian Fisheries Society, 1992. v. 1, p. 519-529.
- ARAUCO, L.; STÉFANI, M.; NAKAGHI, L. Efeito do extrato hidroalcoólico de própolis no desempenho e na composição leucocitária do sangue de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*). **Acta Scientiarum: animal sciences**, Maringá, v. 29, n. 2, p. 227-234, 2007.
- BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; POPOV, S.; MARCUCCI, M.C.; TSVETKOVA, I.; KUJUMGIEV, A.; Antibacterial activity of essential oils from Brazilian propolis. **Fitoterapia**, v. 70, p. 190-193, 1999.
- BANKOVA, V.; POPOVA, M.; BOGDANOV, S.; SABATINI, A.G.; Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results. **Z Naturforsch**, v. 57, p. 530-533, 2002.
- BANSKOTA, A. H , TEZUKA, Y.; PRASAIN, J.K.; MATSUSHIGE, K.; SAIKI, I.; KADOTA, S. Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activity. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 896-900, 1998.
- BARCELLOS, L. J. G.; NICOLAIEWSKY, S.; SOUZA, S.M.G.; LULHIER, F. The effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 30, p. 887-892, 1999.
- BARTON, B. A. Endocrine and metabolic responses of fish to stress. **International Association of Aquatic Animal Medicine Proceedings**, v. 19, p. 41-55, 1988.
- BEVERIDGE, M. C. M. **Cage aquaculture**. 3rd ed.: Blackwell, 2004. 307 p.
- BOCK, C. L.; PADOVANI, C. R.; Considerações sobre a reprodução artificial e alevinagem de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) em viveiros. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, p. 495-501, 2000.
- BREYER, H. F. E. Própolis produção com *Apis mellifera* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11., 1996, Teresina, Piauí. **Anais...** Teresina, 1996.

- BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 347-363, 1998.
- CARNEIRO, P. F. C.; MIKOS, J. D. Frequência alimentar e crescimento de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 187-191, jan./fev. 2005.
- CASTAGNOLLI, N.; CYRINO, J. E. P. **Piscicultura nos trópicos**. São Paulo: Manole, 1986. 154 p.
- CHEN, W. H. SUN, L.T.; TSAI, C.L.; SONG, Y.L.; CHANG, C.F. Cold-stress induced the modulation of catecholamines, cortisol, immunoglobulin M, and leukocyte Phagocytosis in tilapia. **General and Comparative Endocrinology**, v. 126, p. 90-100, 2002.
- CHU, W. H. Ajuvant effect of propolis on immunization by inactivated *Aeromonas Hydrophila* in carp (*Carassius auratus gibelio*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 21, p. 113-117, 2006.
- CUESTA, A.; RODRÍGUEZ, A.; ESTEBAN, M. A.A.; MESEGUER, J. In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses **Fish and Shellfish Immunology**, v. 18, n. 1, p. 71-80, Jan. 2005.
- EDDY, F. B. Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish. In: PICKERING, A. D. (Ed.). **Stress and fish**. London: Academic Press, 1981. p. 77-102.
- FABBRI, E.; CAPUZZO, A.; MOON, T. W. The role of circulating catecholamines in the regulation of fish metabolism: An overview **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 120, p. 177-192, 1998.
- FUNARI C. S.; FERRO V. O. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 171-178, 2006.
- GATESOUBE, F. J. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture**, v. 180, p. 147-165, 1999.
- GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. **Bee World**, v. 60, n. 2, p. 59-84, 1979.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE. **Estatística da pesca 2006 Brasil: grandes regiões e unidades da federação**. Brasília, DF, 2008. 174 p.
- IOIRISH, N. **As abelhas: farmacêuticas com asas**. Moscou: Mir, 1982. 228 p.
- ISLA, M. I.; MORENO, M.I.N.; SAMPIETRO, A.R. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 165-170, 2001.
- JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D.J.; MALHEIROS, E.B.; PORTELLA, M.C.; Growth and survival of Pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquaculture**, v. 221, n. 2, p. 277-287, 2003.

- KUBITZA, F. Tanques-rede, rações e impacto ambiental. **Panorama da Aqüicultura**, v. 9, n. 51, p. 44-50, 1999.
- LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; LEITE, R. C.; MELO, D. C.; Estresse em peixes. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n. 3/4, p. 113-117, 2006.
- MARCUCCI, M.C., FERRERES, F., GARCÍA-VIGUERA, C., BANKOVA, V.S., DE CASTRO, S.L., DANTAS, A.P., VALENTE, P.H.M., PAULINO, N. Phenolics compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal Ethnopharmacology**, v. 74, p. 105-112, 2001.
- MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, p. 83-99, 1995.
- MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 405-411, 2005.
- MOHAMMADZADEH, S.; SHARIATPANAH, M.; HAMED, M.; AHMADKHANIHA, R.; SAMADI, N.; OSTAD, S.N.. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis, **Food Chemistry**, v. 103, p. 1097-1103, 2007.
- MORGAN, J. D.; IWAMA, G. K. Cortisol induces changes in oxygen consumption and ionic regulation in coastal cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki clarki*) parr. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.15, p. 385-94, 1996.
- MOYLE, P. B.; CECH, J. J. Jr. **Fishes: an introduction to ichthyology**. 2nd ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1998. 559 p.
- MURAI, T.; ANDREWS, J. W. Effect of feeding on growth and food conversion of channel catfish fry. **Bulletin of Japanese Society on Science of Fisheries**, v. 42, p. 159-161, 1976.
- ORSI, R. O.; SFORCIN J. M.; FUNARI S. R. C.; FERNANDES-JR. A.; RODRIGUES P.; BANKOVA V. Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on Salmonella serovars. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 13, n. 4, p. 748-757, 2007.
- ORSI, R. O.; FUNARI, S.R.C.; SOARES, A.M.V.C.; CALVI, S.A.; OLIVEIRA, S.L.; SFORCIN, J.M.; BANKOVA, V. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 6, n. 2, p. 205-219, 2000.
- ORSI, R. O.; SFORCIN, J.M.; FUNARI, S.R.; BANKOVA, V. Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 11, n. 2, p. 109-116, 2005.
- ORSOLIC, N.; KNEZEVI, A.H.; SVER, L.; TERZI, S.; BASIC, I. Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 307-315, 2004.

ORSOLIC, N.; BASIC, I.; Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, p. 265-273, 2003.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 102-107, 2007.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá; Brasília, DF: CNPq, 1998. 264 p.

PARK, Y.K.; ALENCAR, S.M.; SCAMPARINI, A.R.P.; AGUIAR, C.L. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, v. 2, p. 997-1003, 2002.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, May 2002.

PILLAY, T. V. R.; KUTTY, M. N. **Aquaculture: principles and practices**. 2nd ed.: Fishing News Books, 2005. 624 p.

PORTZ, L. Recentes avanços na imuno-nutrição de peixes. In: SILVA-SOUZA, A. T. **Sanidade de organismos aquáticos**. Maringá: ABRAPOA, 2006. p. 229-236.

ROBERTSON, L.; THOMAS, P.; ARNOLD, C. R.; TRANT, J. M. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and disease outbreak. **Progressive Fish Culturist**, v. 49, p. 1-12, 1987.

SAKAI, M. Current research status of fish immunostimulants. **Aquaculture**, v. 172, p. 63-92, 1999.

SCAZZOCCHIO, F.; D'AURIA, F.D.; ALESSANDRINI, D.; PANTANELLA, F. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Research in Microbiology**, v. 4, p. 327-333, 2005.

SFORCIN, J. M.; KANENO, R.; FUNARI, S. R. C. Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of brazilian propolis on natural killer activity. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v. 8, n. 1, p.19-p.29, 2002.

SIMÕES, F. S.; YABE, M. J. S.; MOREIRA, A. B.; BISINOTI, M. C. Avaliação do efeito da piscicultura em sistemas aquáticos em Assis e Cândido Mota, São Paulo, por indicador de qualidade da água e análise estatística multivariada. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 8, p.1835-p.1841, 2007.

SOUSA, R. M. R.; AGOSTINHO, C.A.; OLIVEIRA, F.A.; ARGENTIM, D. Frequência alimentar e alimentação noturna de tilápias. **Revista Panorama da Aqüicultura**, v. 16, n. 95, p.49-51, 2006.

- SY, L.B.; WU, Y.; CHIANG, B.; WANG, Y.; WU, W. Propolis extracts exhibit an immunoregulatory activity in an OVA-sensitized airway inflammatory animal model. **International Immunopharmacology**, v. 6, p. 1053-1060, 2006.
- THOMASSEN, J. M.; FJAERA, S. O. Studies of feeding frequency for atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquacultural Engineering**, v. 15, p. 149-157, 1996.
- TOLEDO, J. Extrato saudável. **Globo Rural**, p. 34-38, jun. 1997.
- TUCKER, C. S.; ROBINSON, E. H. Feeds and feeding practices. In: TUCKER, C. S.; ROBINSON, E. H. **Channel catfish farming handbook**. New York: AVI Book, 1991. chap.10, p. 292-315.
- URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, E. J. P. (Ed.). **Tópicos especiais de piscicultura de água doce tropical intensiva**. São: TecARt, 2004. cap. 6, p. 171-94.
- URBINATI, E. C.; GONÇALVES, F. D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. C. (Ed.) **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 1 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2005. p. 225-256.
- UZEL, A. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiology Research**, v. 160, p. 189-195, 2005.
- VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A, P.; WITT, N. M.; COSTA M. M.; SILVA, M. S.; VIANA, L. R. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcóolico de própolis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p.159-163, Feb. 2004.
- WEDEMEYER, G. A.; BARTON, B.; McLEAY, D. Stress and acclimation. In: SCHERECK, C.; MOYLE, P. (Eds.). **Methods for fish biology**. Bethesda: American Fisheries Society, 1990. p. 451-489.
- WEIL, L. S.; BARRY, T. P.; MALISON, J. A. Fast growth in rainbow trout is correlated with a rapid decrease in post-stress cortisol concentrations. **Aquaculture**, v. 193, p. 373-80, 2001.
- WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apiculture Research**, v. 37, p. 99-105, 1998.
- ZHANG, G.; GONG, S.; YU, D.; YUAN, H.. Propolis and Herba Epimedii extracts enhance the non-specific immune response and disease resistance of Chinese sucker *Myxocyprinus asiaticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 26, n. 3, p. 467-472, Mar. 2009.

CAPÍTULO 2

PRÓPOLIS NO DESEMPENHO PRODUTIVO DE JUVENIS DE PACU CRIADOS EM TANQUE-REDE E ARRAÇOADOS COM BAIXA E COM ALTA FREQUÊNCIA ALIMENTAR

RESUMO: O cultivo intensivo de peixes em tanque-rede pode induzir ao estresse fisiológico, promovendo queda de desempenho do animal e da imunocompetência. A utilização de imunostimulantes, como a própolis, pode melhorar a imunidade inata dos animais e fornecer resistência a patógenos durante períodos de estresse elevado. Os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito da própolis em juvenis de pacu, criados em tanques-rede e arraçoados com baixas e altas frequências alimentares, por meio do desempenho produtivo e das enzimas intestinais. Foram utilizados juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), distribuídos em 18 tanques-rede com estocagem de 90 alevinos/m³ com peso médio inicial de 27,57±7,21 g. Foram utilizados três níveis de própolis incorporada na ração comercial, nos seguintes tratamentos: 0,0; 1,0 e 10,0 g de própolis/kg de ração, fornecidas em duas frequências alimentares: quatro e 24 vezes ao dia em um delineamento fatorial (3x2) e com taxa de alimentação de 7,0%. Os resultados foram analisados por ANOVA, seguida do teste de Tukey para comparação de médias. A suplementação de própolis na dieta melhorou o ganho de peso dos animais, na frequência alimentar de 24 vezes ao dia. Entretanto, quando a frequência alimentar foi menor os níveis de própolis não melhoraram o ganho de peso.

Palavras-chave: Pacu, própolis, frequência alimentar

**PRODUCTIVE PERFORMANCE OF PROPOLIS IN JUVENILES OF PACU
REARED IN NET CAGES AND FED WITH HIGH AND LOW FEEDING
FREQUENCIES**

ABSTRACT: Intensive fish farming in net cages can lead to physiological stress, thus impairing animal performance and resistance to diseases. The use of immunostimulants, such as propolis, can bring benefits mainly in the initial phases of the culture. This work aimed at evaluating the effect of propolis in juveniles of Pacu, reared in net cages and fed high and low feeding frequencies, by analyzing their performance and digestive enzymes. Pacus were distributed in 18 cages with 90 fish/m³ and 27.57±7.21 g. Three levels of propolis were added in fish diet (0.0; 1.0 and 10.0g/kg) supplied in two feeding frequencies (four and 24/day) in a factorial arrangement (3x2) and a feeding rate corresponding to 7% of fish weight. Results were analyzed by ANOVA and Tukey test comparison of averages. Fish diet with propolis with a feeding frequency of 24 times a day resulted in improved weight gain.

Key-words: Pacu, propolis, feeding frequency

INTRODUÇÃO

Na aquicultura, o estresse fisiológico é um fator que contribui para a queda de resistência imunológica dos peixes e, conseqüente, incidência de doenças e mortalidade. Esse estresse fisiológico está relacionado a altas densidades de peixes no tanque, baixa qualidade da água (pouco oxigênio dissolvido, poluentes, matéria orgânica em excesso, pH ou temperatura inadequados), manejo excessivo ou incorreto (captura, transporte e biometrias) e nutrição inadequada (BARTON, 1988; WEDEMEYER *et al.*, 1990; URBINATI; CARNEIRO, 2004; ADAMANTE *et al.*, 2008;).

As doenças nas espécies criadas em cativeiro, principalmente as de origem infecciosa, têm considerável importância, pois limitam o potencial produtivo e reprodutivo dos peixes e a rentabilidade comercial das empresas aquícolas. Os modos de infecção mais comuns são pela ingestão de bactérias, por meio de ferimentos na pele provocados por traumas ou parasitos e brânquias (PAVANELLI *et al.*, 1998).

A utilização de imunostimulantes, que aumentem a resistência a doenças infecciosas por meio de mecanismos não específicos de defesa, tem sido estudada (SAKAI, 1999).

A própolis, produto natural com conhecida atividade imunostimulante (ORSI *et al.*, 2000), pode ser importante ferramenta para a garantia do bem-estar de peixes criados em sistemas intensivos de produção, como tanque redes. A composição química da própolis está diretamente relacionada com a origem botânica, condições climáticas e geográficas do local de coleta da resina pelas abelhas (MARCUCCI, 1995; NAGAOKA *et al.*, 2003, SEIDEL *et al.*, 2008).

Estudos realizados identificaram mais de trezentas substâncias na própolis, com predominância de flavonóides (flavonas, flavonóis, flavanonas), os quais destacam-se: galangina, crisina, tectocrisina, pinocembrina, campferol e quercetina, bem como aldeídos aromáticos (vanilina e isovanilina), cumarinas, ácidos fenólicos (ácido caféico, ferúlico, cinâmico e cumárico), ácidos orgânicos (ácido benzóico) e alguns oligoelementos, como: alumínio, vanádio, ferro, cálcio, silício, manganês, estrôncio, e vitaminas B1 e C (BANKOVA *et al.*, 2000; MARCUCCI *et al.*, 2001, GECKIL *et al.*, 2005).

Outra alternativa para melhorar a saúde dos peixes é o manejo adequado da frequência alimentar que melhora a uniformidade do lote diminuindo o estresse com triagens (TUCKER; ROBINSON, 1991), as relações de dominância diminuindo disputas por alimento (JOBBLING, 1983; WANG *et al.*, 2006), as taxas de crescimento (KAYANO *et al.*, 1993; RUOHONEN *et al.*, 1998, LEE *et al.*, 2000; DWYER *et al.*, 2002), a conversão alimentar (DWYER *et al.*,

2002) e diminui desperdícios de ração o que melhora a qualidade da água (DWYER *et al.*, 2002; TUCKER *et al.*, 2006).

Alguns fatores podem influenciar a digestibilidade dos alimentos nos peixes, e consequente o desempenho zootécnico destes, com destaque para: espécie, idade, condições fisiológicas, temperatura na água, salinidade, composição do alimento, quantidade de alimento ingerido e tamanho da partícula (HEPHER, 1988). Zhou *et al.* (2003) submeteram peixes a tratamentos com 2, 3, 4, 12, e 24 refeições diárias e observaram que fornecendo a ração em 24 refeições diárias, a digestibilidade aparente da proteína bruta e energia foram maiores.

Desta forma, os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito da própolis no desempenho produtivo de juvenis de pacú criados em tanque rede e arraçoados com baixas e com altas frequências alimentares.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi conduzido na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus de Botucatu, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Produção Animal no laboratório de Produção de Aquicultura período de setembro a outubro de 2008.

A própolis foi produzida por abelhas *Apis mellifera* africanizadas, alojadas em colméias modelo Langstroth, por meio da técnica do coletor de própolis inteligente (CPI), que consiste na colocação de sarrafos móveis nas laterais de uma melgueira. A própolis coletada foi armazenada em freezer até o início dos experimentos. A coleta foi realizada no período de maio a agosto de 2007, no apiário da Área de Produção de Apicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Câmpus de Botucatu, Estado de São Paulo.

Foram utilizados juvenis de pacu, com peso médio inicial de $27,57 \pm 7,21$ g, distribuídos em 18 tanques-rede submersos a um metro de profundidade num viveiro de 2.000 m² de espelho d'água, com profundidade máxima de 3,0m. A densidade de estocagem foi de 90 alevinos/m³. O reservatório apresentou taxa de renovação de 120 litros/min. Os peixes foram alimentados com ração comercial (Tabela 1), na qual foi realizada a análise bromatológica (Tabela 2) e o alimento foi ofertado aos peixes por meio de alimentadores automáticos (AGOSTINHO *et al.*, 2004), com temporizadores individuais, que possibilitam definir previamente a quantidade e o horário de fornecimento de ração.

Tabela 1. Níveis de garantia (%) do fabricante da ração

NUTRIENTES (%)	NÍVEIS DE GARANTIA
Umidade (Max)	10%
Proteína Bruta (Min)	40%
Extrato Etéreo (Min)	10%
Matéria Fibrosa (Max)	6,0%
Matéria Mineral (Max)	13%
Fósforo (Min)	0,8%
Cálcio (Max)	3,5%

Tabela 2. Análise Bromatológica (%) das rações utilizadas no experimento.

NUTRIENTES	NÍVEIS NA RAÇÃO
Matéria Seca (Max)	8,21%
Proteína Bruta (Min)	41,09%
Extrato Etéreo (Min)	10,87%
Matéria Fibrosa (Max)	3,04%
Matéria Mineral (Max)	8,44%

Resultados expressos em 100% da matéria seca

O experimento consistiu em criar juvenis de pacu, com taxa de alimentação de 7,0%PV, em um delineamento fatorial (3x2) com três níveis de própolis na ração comercial, nos seguintes tratamentos (ração sem própolis, suplementada com 1,0 g de própolis por quilo e com 10,0 g de própolis por quilo). As rações foram fornecidas em duas frequências alimentares: quatro e vinte quatro vezes ao dia.

Para a própolis ser incorporada na ração foi triturada e misturada em óleo de soja para ser aspergida com o auxílio de um compressor de ar; após, esta foi espalhada em uma superfície coberta com plástico para secagem, a temperatura ambiente. Todos os tratamentos tiveram 1,0 litro de óleo de soja incorporada, contendo ou não a própolis, para cada 25,0 kg de ração.

O ajuste na quantidade de alimento fornecido foi baseado no peso vivo dos peixes inicial e a taxa de crescimento esperada para que não ocorresse estresse devido a biometrias. O experimento teve duração de 45 dias, correspondentes a fase juvenil (20-100g). Ao término do experimento, todos os peixes foram pesados individualmente em balança digital de 0,1g da marca Instruterm para a determinação do ganho de peso.

Três peixes de cada tratamento foram colocados em aquários de 30L com benzocaina na concentração de 5mg/L, após atingirem estado de anestesia em que não respondiam a estímulos externos os peixes foram eutanasiados por seccção cervical, e o intestino delgado coletado, lavado em solução fisiológica, acondicionado em frascos previamente identificados e estocado em nitrogênio líquido. Para a determinação das enzimas intestinais o intestino foi descongelado e a mucosa do intestino delgado raspada e homogeneizada após a adição de quatro partes de água destilada. Alíquotas do homogeneizado foram incubadas com substratos apropriados (sacarose ou maltose). A glicose liberada durante a reação foi determinada pelo método de glicose-oxidase. A atividade foi expressa em gramas de mucosa (DAHLQUIST, 1964).

A análise estatística foi realizada utilizando-se o Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (EUCLYDES, 2005)- SAEG, por meio de um modelo que considera o efeito da frequência alimentar, a concentração de própolis na ração e a interação entre a frequência e a própolis. Para se comparar as médias utilizou-se o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS

As médias de peso corpóreo inicial e final e ganho de peso obtidas para os diversos tratamentos encontram-se expressas na tabela 3. Durante o período experimental a temperatura média foi em torno de $24,7 \pm 1,52^{\circ}\text{C}$.

A análise de variância mostrou interação entre a frequência de arraçamento e suplementação de própolis para ganho de peso ($P < 0,05$). Observou-se que o aumento na frequência de arraçamento de pacus, sem a adição de própolis, piorou significativamente o ganho de peso dos animais, diminuindo de $90,97 \pm 30,56\text{g}$ (quatro vezes ao dia) para $60,55 \pm 21,04\text{g}$ (vinte e quatro vezes ao dia).

Nos animais que foram alimentados com dietas suplementadas com própolis na frequência de 4 vezes ao dia, o ganho de peso foi reduzido ($P < 0,05$) de $90,97 \pm 30,56\text{g}$ para $59,22 \pm 24,71\text{g}$ e $73,24 \pm 32,95$ com a inclusão de 1 e 10 gramas de própolis/kg de ração, respectivamente.

Entretanto, na frequência de 24 vezes ao dia o ganho de peso aumentou, de forma significativa, com a inclusão de 10 gramas de própolis/kg de ração ($69,08 \pm 30,18\text{g}$), em

comparação com o controle sem própolis (60,55±21,04g). A inclusão de 1 grama de própolis/kg de ração não foi significativamente diferente ($P<0,05$) dos demais tratamentos.

Os dados referentes às enzimas intestinais sacarase e maltase encontram-se expressos na Tabela 4. Com relação a enzima intestinal sacarase, observou-se que não houve diferença significativa de frequência de arrazoamento, quando os peixes foram alimentados, sem a inclusão de própolis, 4 ou 24 vezes ao dia.

Na frequência de 4 vezes ao dia houve aumento significativo no valor de sacarase quando se adicionou 1 grama de própolis/kg de ração (0,74±0,1 µg/g), em comparação com o controle sem própolis (0,56±0,2 µg/g). Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas com a adição de 10 gramas de própolis/kg de ração, em comparação com os demais tratamentos.

Quando se alimentou os peixes 24 vezes ao dia, observou-se redução significativa nos índices de sacarase com a inclusão de 10 gramas de própolis/kg de ração (0,23±0,1 µg/g), quando comparados com o tratamento sem adição de própolis (0,57±0,1 µg/g) e 1 grama de própolis/kg de ração (0,65±0,2 µg/g).

Não foram detectadas diferenças para a atividade da maltase, independente da frequência alimentar e da suplementação de própolis ($P>0,05$).

Tabela 3. Peso inicial, final e ganho de peso médio (gramas) de pacus alimentados com dieta contendo ou não a presença de própolis (1 e 10 gramas por quilo de ração), em baixa e alta frequência alimentar (4 ou 24 vezes ao dia). Os resultados representam a média e o respectivo desvio-padrão.

	Peso inicial		Peso final		Ganho de Peso Médio	
	4x	24x	4x	24x	4x	24x
P 0	26,94±4,42	27,37±4,16	117,66±31,72	87,86± 21,08	90,97±30,56Aa	60,55±21,04Bb
P 1	27,10±4,31	27,68±4,35	89,29±19,74	96,54±25,29	59,22±24,71Cb	66,93±26,56ABa
P10	27,96±14,55	28,36±5,03	101,55±28,18	98,93±27,27	73,24±32,95Ba	69,08±30,18Aa

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas e, minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. (P0= Ração sem própolis, P1, P10= 1 e 10g propolis/kg de ração)

TABELA 4. Valores de atividade ($\mu\text{g muc}$) de sacarase e maltase em função dos tratamentos com ausência ou presença de própolis (1 e 10g/kg de ração) na dieta de pacus arraoados com baixa ou alta frequência alimentar (4 ou 24 vezes ao dia). Os dados representam a média e os respectivos desvio-padrão.

	Sacarase		Maltase	
	4x	24x	4x	24x
P 0	0,56 \pm 0,2Ba	0,57 \pm 0,1Aa	0,49 \pm 0,2Aa	0,59 \pm 0,1Aa
P 1	0,74 \pm 0,1Aa	0,65 \pm 0,2Aa	0,62 \pm 0,1Aa	0,55 \pm 0,1Aa
P10	0,68 \pm 0,1ABa	0,23 \pm 0,1Bb	0,58 \pm 0,1Aa	0,56 \pm 0,1Aa

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas e, minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. (P0= Ração sem própolis, P1, P10= 1 e 10g propolis/kg de ração).

DISCUSSÃO

Quando se compara as frequências alimentares observa-se que as diferenças entre o ganho de peso, observadas nas condições deste trabalho, podem ser atribuídas à velocidade de trânsito dos alimentos no trato gastrointestinal dos peixes.

A velocidade de trânsito é um dos fatores que regula a transformação dos alimentos dentro do tubo digestivo e a absorção dos nutrientes (DIAS- KOBERSTEIN *et al.*, 2005). O tempo de retenção dos alimentos também ocorre em função da temperatura de aclimação dos peixes influenciando igualmente na quantidade de alimento consumido espontaneamente pelos peixes (POSSOMPES *et al.* 1973).

Essa velocidade de trânsito pode ser menor em animais que passam por períodos de jejum ou até mesmo por restrição alimentar, o que promove maior tempo para o processo de digestão e absorção dos nutrientes. Portanto, a taxa de passagem mais lenta pode melhorar a digestibilidade e, conseqüentemente, a eficiência de utilização dos alimentos, levando ao maior ganho de peso (GIACHETTO, 1998), conforme o observado neste trabalho.

Outros autores verificaram que o aumento na frequência alimentar promove um aumento na velocidade do esvaziamento gástrico (GROVE *et al.*, 1978; HAYWARD; BUSHMANN, 1994; RICHE *et al.*, 2004). Verbeeten *et al.* (1999) indicaram que os peixes

Lepomis cyanellus e *Rhombosolea tapirina* tem preferência específica por intervalos maiores entre os tratos e que o aumento da frequência alimentar e a conseqüente diminuição desses intervalos tem influencia negativa no ganho de peso. Sabe-se que em algumas espécies de peixes, como o *Morone saxatilis*, quando o intervalo entre tratos é curto, o alimento passa pelo trato digestório rapidamente, resultando em pior digestão (LIU; LIAO, 1999).

Pode-se sugerir que nos animais que recebem a ração com frequência maior (24 vezes ao dia) ocorreu aumento da velocidade de trânsito, o que diminuiu o tempo de exposição do alimento aos processos digestivos e fez com que a digestão e degradação efetiva diminuíssem. Este fato promoveu redução do ganho de peso e conseqüente desempenho dos animais.

Entretanto, em outros trabalhos foi verificado aumento de ganho de peso em resposta ao aumento da frequência de arraçamento (KAYANO *et al.*, 1993; RUOHONEN *et al.*, 1998; LEE *et al.*, 2000; DWYER *et al.*, 2002).

Dados da literatura mostram que dietas suplementadas com própolis, levam ao menor consumo de ração, em decorrência da baixa palatabilidade da dieta. Ito *et al.* (2009), verificaram que a adição de 0,4% de própolis na dieta de leitões na fase de creche, promoveu uma diminuição do consumo em relação ao grupo controle, sugerindo efeito da própolis na palatabilidade nos animais.

Entretanto, Santos *et al.* (2003), trabalhando com aves, verificaram que o aumento da inclusão de resíduo de própolis não afetou a palatabilidade da ração, embora esta tenha recebido a inclusão de óleo, o que pode ter contribuído para a melhora da palatabilidade. Da mesma forma, Freitas *et al.* (2009), com o propósito de verificar o efeito da adição do extrato etanólico de própolis, na alimentação de vacas da raça Holandesa, sobre a produção de leite, misturaram o extrato etanólico de própolis com fubá de milho (200 gramas/animal/dia) para não provocar alterações na palatabilidade da ração.

A adição de extrato alcoólico de própolis na dieta de *Myxocyprinus asiaticus* promoveu melhora na resposta imune não específica dos peixes e reduziu a mortalidade dos mesmos infectados com *Aeromonas hydrophila* (ZHANG, 2009). Desta forma, se mostrou eficiente quanto a melhora de ganho de peso e conversão alimentar de tilápias, *Oreochromis niloticus* (ABD-EL-RHMA, 2009), e teve efeito positivo no ganho de peso e no ciclo da metamorfose de girinos de rã touro, *Rana catesbeiana* (ARAUCO, 2007).

Entretanto, somente o aumento da atividade de enzimas digestivas não é fator determinante para promover ganho de peso nos animais, uma vez que o aproveitamento dos nutrientes digeridos só é completo se a absorção do mesmo ocorrer. O processo de absorção de nutrientes é totalmente dependente da presença de transportadores de membranas.

Os carboidratos, por exemplo, são absorvidas sob a forma de monossacarídeos, essencialmente glicoses, em um processo sódio dependente e que utiliza transportadores de membrana. Essa absorção de nutrientes, entretanto, é regulada pela dieta e pela concentração de substratos no lúmen (FERRARIS; DIAMOND, 1989; DROZDOWSKI *et al.*, 2006). Portanto, pode-se sugerir que os animais que tiveram maior ganho de peso e menor atividade da enzima, poderiam apresentar mudanças na densidade do transportador, levando a uma maior absorção dos nutrientes (FERRARIS; DIAMOND, 1989; PACHA, 2000).

O presente trabalho mostrou que a suplementação de própolis na dieta é capaz de melhorar o ganho de peso dos animais, quando a frequência alimentar de 24 vezes ao dia é aplicada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-EL-RHMA, A. M. M. Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 27, n. 3, p. 454-459, Sept. 2009.

ADAMANTE, W. B.; NUÑER, A.P.O.; BARCELLOS, L.J.G.; SOSO, A.B.; FINCO, J.A.; Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of transportation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, June 2008.

AGOSTINHO, C. A.; LIMA, S. L.; FORTES, J. V. **Dispensador automático de ração**. Patente de Invento n°0403612-3, 2004.

ARAUCO, L.; STÉFANI, M.; NAKAGHI, L. Efeito do extrato hidroalcoólico de própolis no desempenho e na composição leucocitária do sangue de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*). **Acta Scientiarum: animal sciences**, Maringá, v. 29, n. 2, p. 227-234, 2007.

BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, p. 3-15, 2000.

BARTON, B. A. Endocrine and metabolic responses of fish to stress. **International Association of Aquatic Animal Medicine Proceedings**, v. 19, p. 41-55, 1988.

DAHLQUIST, A. Method for assay of intestinal disaccharidases. **Analytical Biochemistry**, v. 7, p. 447-54, 1964.

DIAS-KOBERSTEIN, T. C. R.; CARNEIRO, D. J.; URBINATI, E. C. Tempo de trânsito gastrintestinal e esvaziamento gástrico do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em diferentes temperaturas de cultivo. **Acta Scientiarum: animal science**, Maringá, v. 27, p. 413-417, 2005.

DROZDOWSKI, L. A.; THOMSON, A. B. R. Intestinal sugar transport. **World Journal Gastroenterology**, v. 12, p. 1657-1670, 2006.

DWYER, K. S.; BROWN, J.A.; PARRISH, C.; LALL, S.P. Feeding frequency affects food consumption, feeding pattern and growth of juvenile yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*), **Aquaculture**, v. 213, p. 279-292, 2002.

EUCLYDES, R. **SAEG: sistema para análises estatísticas e genéticas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. v. 9.

FERRARIS, R.; DIAMOND, J. Specific regulation of intestinal nutrient transporters by their dietary substrates. **Annual Review Physiology**, v. 51, p. 125-141, 1989.

FREITAS, J. A.; ANTONANGELO, R. P.; RIBEIRO, J. L.; JOSLIN, M., NOGUEIRA, S.R.P.; SOUZA, J. C.; Extrato etanólico de própolis na alimentação de vacas leiteiras, **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 2, p. 333-343, abr./jun. 2009.

GECKIL, H.; ATES, B.; DURMAZ, G.; ERDOGAN, S.; YILMAZ, I.; Antioxidant, free radical scavenging and metal chelating characteristics of propolis, **American Journal of Biochemistry and Biotechnology** V.1 , pp. 27–31, 2005

GIACHETTO, P.F. **Mecanismos hormonais do ganho compensatório e composição de carcaça em frangos de corte submetidos a restrição alimentar com diferentes níveis energéticos**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1998. 98p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, 1998.

GROVE, D. J.; LOIZIDES, L. G.; NOTT, J. Satiation amount, frequency of feeding and gastric emptying rate in *Salmo gairdneri*. **Journal of Fish Biology**, v. 12, p. 507-516, 1978.

HAYWARD, R. S.; BUSHMANN, M. E. Gastric evacuation rates for juvenile Largemouth bass. **Transactions of the American Fisheries Society**, Edmonton, v. 123, p. 88-93, 1994.

HEPHER, B. **Nutrition of pond fishes**. Cambridge, Inglaterra : Cambridge University Press, 1988. 406 p.

ISLA , M. I ; MORENO, M.I.N.; SAMPIETRO, A.R. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 165-170, 2001.

ITO, E. H.; SILVA, N. V. P.; ORSI, R. O. Uso da própolis em ração de leitões desmamados. **PUBVET**, Londrina, v. 3, n. 4, Fev. 2009. Artigo 498.

JOBLING, M. Effect of feeding frequency on food intake and growth of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. **Journal of Fish Biology**, v. 23, p. 177-185, 1983.

KAYANO, Y., YAO, S., YAMAMOTO, S. AND NAKAGAWA, H. Effects of feeding frequency on the growth and body constituents of young red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*, **Aquaculture**, v. 110, p. 271-278, 1993.

LEE, S. M.; HWANG, U. G.; CHO, S. H. Effects of feeding frequency and dietary moisture content on growth, body composition and gastric evacuation of juvenile Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*), **Aquaculture**, v. 187, p. 399-409, 2000.

LIU, F. G.; LIAO, C. I. Effect of feeding regimen on the food consumption, growth and body composition in hybrid striped bass *Morone saxatilis*×*M. chrysops*. **Fisheries Science**, v. 64, p. 513-519, 1999.

NAGAOKA, T.; BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; MIDORIKAWA, K.; MATSUSHIGE, K.; KADOTA, S.; Caffeic Acid phenethyl ester (CAPE) analogues: Potent nitric oxide inhibitors from the Netherlands propolis, **Biological and Pharmaceutical Bulletin** v.26 , pp. 487–491, 2003

MARCUCCI, M.C., FERRERES, F., GARCÍA-VIGUERA, C., BANKOVA, V.S., DE CASTRO, S.L., DANTAS, A.P., VALENTE, P.H.M., PAULINO, N. Phenolics compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal Ethnopharmacology**, v. 74, p. 105-112, 2001.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, p. 83-99, 1995.

MULI, E. M.; MAINGI, J. M. Antibacterial activity of *Apis mellifera* L. propolis collected in three regions of Kenya. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, Botucatu, v. 13, n. 3, p.655-663, 2007.

ORSI, R. O.; FUNARI, S.R.C.; SOARES, A.M.V.C.; CALVI, S.A.; OLIVEIRA, S.L.; SFORCIN, J.M.; BANKOVA, V. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 6, n. 2, p. 205-219, 2000.

ORSOLIC, N.; BASIC, I. Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, p. 265-273, 2003.

PACHA, J. Development of intestinal transport function in mammals. **Physiology. Review**, v. 80, p. 1633-1667, 2000.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá; Brasília, DF: CNPq, 1998. 264 p.

POSSOMPES, B.D.; BERGOT, P. et LUQUET, P. Mise au point d'une méthode d'étude du transit gastro-intestinal chez la truite ar-en-ciel *Salmo gairdneri* Richardson: Influence du nombre de repas, des quantités ingérées et de La température d'acclimatation. **Ann. Hydrobiology**, v.6, n.2, p.131-143, 1973.

RICHE, N.; HALEY, D.I.; OETKER, M.; GARBRECHT, S. GARLING, D.L.; Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v. 234, p. 657-673, 2004.

RUOHONEN, K.; VIELMA, J.; GROVE, D. J. Effects of feeding frequency on growth and food utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low-fat herring or dry pellets, **Aquaculture**, v. 165, p. 111-121, 1998.

SAKAI, M. Current research status of fish immunostimulants. **Aquaculture**, v. 172, p. 63-92, 1999.

SANTOS, A. V.; TEIXEIRA, A. S.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; A. M. GUIMARÃES.; GIACOMETTI, R. A. Valor nutritivo do resíduo de própolis para frangos de corte **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1152-1159, set./out. 2003.

SEIDEL, V.; PEYFOON, E.; WATSON, D.G.; FEARNLEY, J.; Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zone, **Phytotherapy Research** v.22, pp. 1256–1263, jun. 2008.

SHIAU, S. Y.; HSU, C. Y. Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, v. 210, p. 335-342, 2002.

TUCKER, B. J.; BOOTH, M.A.; ALLAN, G.L.; BOOTH, D.; FIELDER, D.S. Effects of photoperiod and feeding frequency on performance of newly weaned Australian snapper *Pagrus auratus*. **Aquaculture**, v. 258, p. 514-520, 2006.

TUCKER, C. S.; ROBINSON, E. H. Feeds and feeding practices. In: TUCKER, C. S.; ROBINSON, E. H. **Channel catfish farming handbook**. New York: AVI Book, 1991. chap.10, p. 292-315.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura.. In: CYRINO, E. J. P. (Ed.). **Tópicos especiais de piscicultura de água doce tropical intensiva**. São: TecARt, 2004. cap. 6, p. 171-94.

VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A, P.; WITT, N. M.; COSTA M. M.; SILVA, M. S.; VIANA, L. R.. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcóolico de própolis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p.159-163, Feb. 2004

VERBEETEN, B. E.; CARTER, C. G.; PURSER, G. J. The combined effect of feeding time and ration on growth performance and nitrogen metabolism of greenback flounder. **Journal of Fish Biology**, v. 55, p. 1328-1343, 1999.

WANG, Y; GUO, J.; LI, K.; BUREAU, D.P. Effects of dietary protein and energy levels on growth, feed utilization and body composition of cuneate drum, *Nibea miichthioides*. **Aquaculture**, v. 252, p. 476-483, 2006.

WEDEMEYER, G. A.; BARTON, B.; McLEAY, D. Stress and acclimation. In: SCHERECK, C.; MOYLE, P. (Eds.). **Methods for fish biology**. Bethesda: American Fisheries Society, 1990. p. 451-489.

ZHANG, G.; GONG, S.; YU, D.; YUAN, H.. Propolis and Herba Epimedii extracts enhance the non-specific immune response and disease resistance of Chinese sucker *Myxocyprinus asiaticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 26, n. 3, p. 467-472, Mar. 2009.

ZHOU, Z. et al. Effect of feeding frequency on growth, feed utilization, and size variation of juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) **Journal of Applied Ichthyology**, v.19, p.244-249, 2003

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Implicações

É necessário o desenvolvimento de futuros ensaios, testando níveis intermediários de própolis, entre 1 e 10g de própolis/kg de ração para observação de seu efeito no desempenho zootécnico, bem como a realização de uma análise econômica para observar se há viabilidade do seu uso na piscicultura comercial. Outros estudos com maior tempo de duração podem possibilitar um melhor entendimento e importância desse imunostimulante na alimentação de juvenis de pacu.