

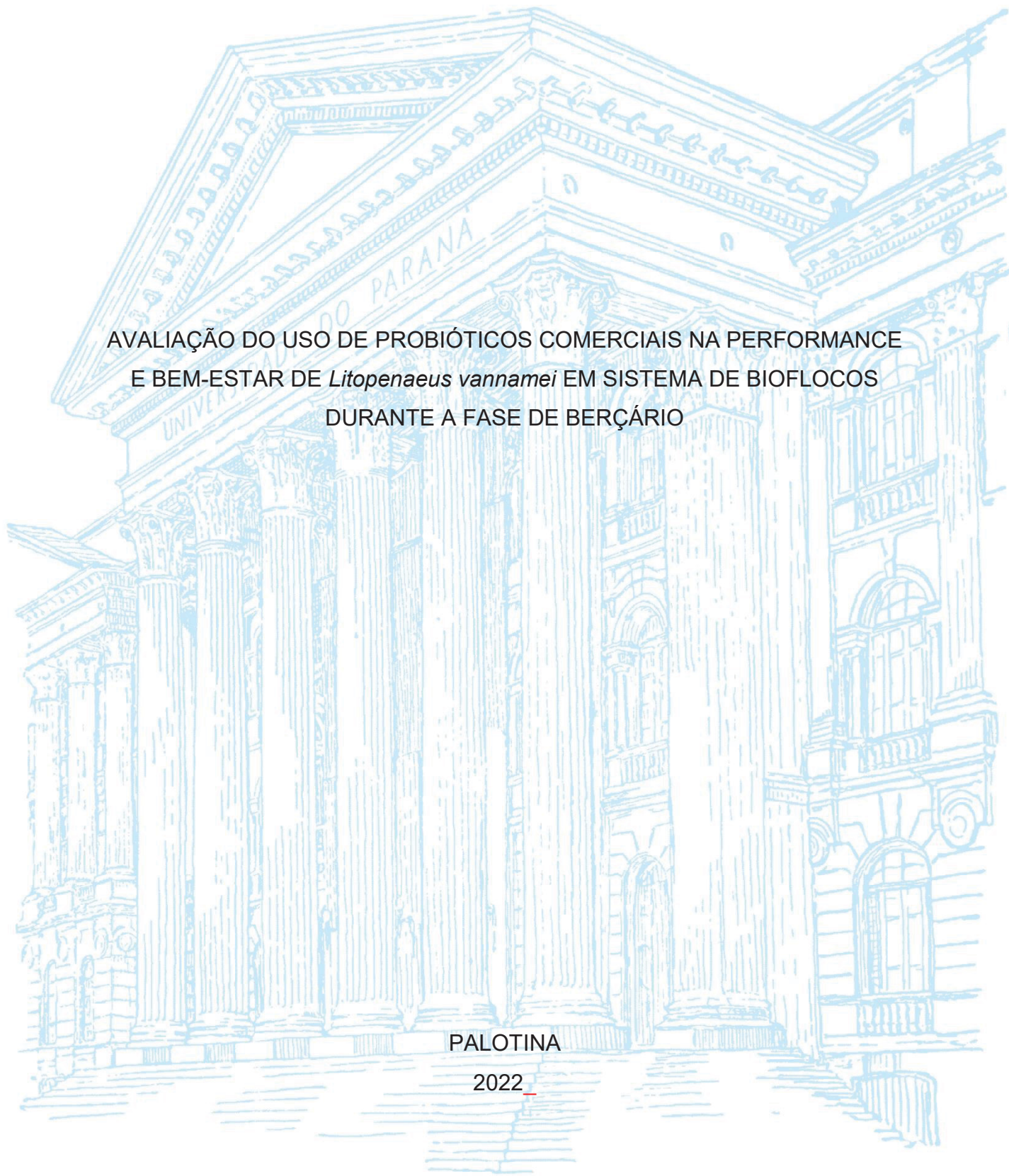
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAIO HENRIQUE DO NASCIMENTO FERREIRA

AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICOS COMERCIAIS NA PERFORMANCE
E BEM-ESTAR DE *Litopenaeus vannamei* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS
DURANTE A FASE DE BERÇÁRIO

PALOTINA

2022



CAIO HENRIQUE DO NASCIMENTO FERREIRA

AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICOS COMERCIAIS NA PERFORMANCE
E BEM-ESTAR DE *Litopenaeus vannamei* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS
DURANTE A FASE DE BERÇÁRIO

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável do Setor Palotina, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável.

Área de concentração: Produção de organismos aquáticos.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Luís Cupertino Ballester

Coorientador: Dr. Fabricio Martins Dutra

PALOTINA

2022

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas.
Biblioteca UFPR Palotina.

F383 Ferreira, Caio Henrique do Nascimento
Avaliação do uso de probióticos comerciais na performance e bem-estar de *litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos durante a fase de berçário / Caio Henrique do Nascimento Ferreira. – Palotina, PR, 2022.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Luís Cupertino Ballester.
Coorientador: Dr. Fabricio Martins Dutra.

1. Aquicultura. 2. Carcinicultura. 3. Camarão.
I. Ballester, Eduardo Luís Cupertino. II. Dutra, Fabricio Martins. III. Universidade Federal do Paraná. VI. Título.

CDU 639

Bibliotecária: Aparecida Pereira dos Santos – CRB 9/1653



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AQUICULTURA E
DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL - 40001016078P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **CAIO HENRIQUE DO NASCIMENTO FERREIRA** intitulada: **AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICOS COMERCIAIS NA PERFORMANCE E BEM-ESTAR DE *Litopenaeus vannamei* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS DURANTE A FASE DE BERÇÁRIO**, sob orientação do Prof. Dr. EDUARDO LUIS CUPERTINO BALLESTER, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 08 de Julho de 2022.

Assinatura Eletrônica

12/07/2022 13:38:00.0

EDUARDO LUIS CUPERTINO BALLESTER

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

20/07/2022 20:57:05.0

WAGNER COTRONI VALENTI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA)

Assinatura Eletrônica

13/07/2022 07:09:12.0

MARLISE TERESINHA MAUERWERK

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de dois probióticos comerciais sobre o bem-estar e o desempenho zootécnico de juvenis de *Litopenaeus vannamei* produzidos em sistema de bioflocos (BFT). Pós-larvas (13 ± 4 mg; $12,8 \pm 1,6$ mm) foram estocadas em 12 unidades experimentais ($n = 75$) por 32 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições: controle (CONT; sem adição de probiótico), tratamento PB1 foi utilizado um produto apresentado em pó, composto por cepas de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* na concentração de 5×10^{10} UFC g⁻¹, a dose utilizada foi a recomendada pelo fabricante, de 0,5 ppm/dia, Os tratamentos PB2_A e PB2_B utilizaram um produto apresentado na forma líquida composto por uma mistura de bactérias, denominado tecnologia do consórcio probiótico – TCP, a base de bactérias ácido lácticas, leveduras, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus casei* - subespécie *rhamnosus* e *Saccharomyces cerevisiae*. Em PB2_A a dose utilizada foi de 1ppm/dia - dose recomendada pelo fabricante e em PB2_B, 2ppm/dia - o dobro da dose recomendada pelo do fabricante. Ao final do experimento foi determinado a performance e o bem-estar animal dos camarões. O tratamento com probiótico líquido na concentração de 2 ppm apresentou as melhores respostas para a produção de *L. vannamei* na fase de berçário em sistema BFT.

Palavras-chave: Aquicultura; Carcinicultura; Camarão-branco-do-pacífico;

Berçário.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of two commercial probiotics on the welfare and zootechnical performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles produced in a biofloc system (BFT). Post-larvae (13 ± 4 mg; 12.8 ± 1.6 mm) were stored in 12 experimental units ($n = 75$) for 32 days. The experimental design was completely randomized with four treatments and three replications: control (CONT; without addition of probiotic), treatment PB1, a product presented in powder was used, composed of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* strains at a concentration of 5×10^{10} CFU g⁻¹, the dose used was the one recommended by the manufacturer, 0.5 ppm/day, The PB2A and PB2B treatments used a product presented in liquid form composed of a mixture of bacteria, called probiotic consortium technology - TCP, based on acid bacteria lactic acid, yeast, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus casei* - subspecies *rhamnosus* and *Saccharomyces cerevisiae*. In PB2A, the dose used was 1 ppm/day - dose recommended by the manufacturer and in PB2B, 2 ppm/day - twice the dose recommended by the manufacturer. At the end of the experiment, the performance and animal welfare of the shrimp were determined. The treatment with liquid probiotic at a concentration of 2 ppm showed the best responses for the production of *L. vannamei* in the nursery phase in a BFT system.

Keywords: Aquaculture; Shrimp farming; Pacific white shrimp; Nursery.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 METODOLOGIA	10
4 RESULTADOS.....	16
5 DISCUSSÃO.....	25
6 CONCLUSÃO	30
7 REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

Na carcinicultura marinha, a criação do camarão-branco-do-pacífico *Litopenaeus vannamei* se destaca devido sua boa capacidade de adaptação em várias condições de produção, *i.e.*, apresentam conversão alimentar eficiente, crescimento rápido, rusticidade, altas taxas de sobrevivência e capacidade de suportar variações dos parâmetros de qualidade de água (FAO, 2012; Ayaz, 2015; Xia and Wu, 2018). Na última década, a produção mundial de *L. vannamei* cresceu de 2,7 para 4,9 milhões de toneladas, o que correspondeu a 52,9% de toda a produção de crustáceos oriunda da aquicultura em 2018 (FAO, 2020). No entanto, sua produção apresenta riscos quanto à geração de impactos ambientais, *e.g.*, a destruição dos ecossistemas, nos quais a descarga de efluentes carrega altas concentrações de compostos nitrogenados e matéria orgânica para o corpo hídrico local (Haslun, 2012), redução na fertilidade do solo em sistemas convencionais de produção oriunda da utilização de águas salinas (Naylor et al., 2000; Boyd, 2003) e por ser uma espécie em muitos locais nos quais é produzida (Barbieri et al. 2007; Tavares 2003). Assim, novas tecnologias buscam alternativas para minimizar estes impactos.

Entre as alternativas tecnológicas existentes, o sistema de bioflocos (BFT- *Biofloc Technology*) tem apresentado bons resultados produtivos (Hlordzi et al., 2020; Martinez-Porchas et al., 2020). O BFT é caracterizado por apresentar agregados microbianos (bactérias, protozoários, fitoplâncton e zooplâncton) associados a partículas, polímeros e células, nos quais as bactérias heterotróficas têm ação no processo de sua formação, utilizando o nitrogênio e o carbono presentes na água para a produção de sua biomassa (Ballester et al. 2010; Hargreaves, 2013; Chung et al., 2014). O sistema ainda pode inibir a proliferação de patógenos devido à exclusão competitiva, *i.e.*, competição por nutrientes e espaço (CRAB et al., 2012). Além da vantagem de reciclagem dos compostos nitrogenados presentes na água para a conversão como fonte de proteína, há também a melhora no crescimento, conversão alimentar, resistência a doenças, e aumento da sobrevivência de *L. vannamei* (Brito et al., 2016; Kamilya et al., 2017).

Esse sistema pode ser incrementado com a utilização de probióticos, que são preparados ricos em microorganismos benéficos, os quais regulam a entrada e

proliferação de eventuais patógenos, diminuem o risco de doenças no sistema de produção, interagem diretamente com o fitoplâncton, potencializam o desenvolvimento zootécnico das espécies produzidas e ajudam a manter os parâmetros de qualidade de água em níveis ideais (Defoirdt *et al.*, 2011, Emoto *et al.*, 2016; Das *et al.*, 2017). Além disso, um dos principais motivos pelos quais o uso de probióticos vem sendo aplicado na produção de organismos aquáticos é pelo fato de ser uma substância inócua capaz de substituir os antibióticos, que são substâncias que podem causar danos (Ahmad *et al.*, 2017).

Tendo em vista as vantagens que esses produtos podem oferecer, cada vez mais é possível encontrar diferentes tipos de probióticos comerciais para a indústria de camarão (Miandare *et al.*, 2016; Xue *et al.*, 2016; Javadi e Khatibi, 2017). Segundo Ninawe e Selvin (2009), os probióticos, de acordo com sua composição, podem apresentar benefícios diferentes para a produção de camarões. Dessa forma, é necessário avaliar a eficiência destes produtos em relação aos principais parâmetros produtivos.

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a performance e bem-estar de juvenis de *L. vannamei* produzidos em sistema de BFT com a utilização de probióticos comerciais.

2 METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Carcinicultura, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Aquicultura Sustentável, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Maripá – Paraná, Brasil, durante 32 dias. Foram utilizadas pós-larvas de *L. vannamei* (linhagem SpeedLine®) adquiridas da empresa Aquatec®.

2.1.1 Delineamento e condições experimentais

O bioensaio foi inteiramente casualizados com quatro tratamentos e três repetições. Além do tratamento controle (CONT; sem adição de probiótico), foram avaliados dois probióticos comerciais, no tratamento PB1 foi utilizado um produto apresentado em pó, composto por cepas de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* na concentração de 5×10^{10} UFC g⁻¹, a dose utilizada foi a recomendada pelo fabricante, de 0,5 ppm/dia. Nos tratamentos PB2_A e PB2_B foi utilizado um produto

apresentado na forma líquida composto por uma mistura de bactérias, denominado tecnologia do consórcio probiótico – TCP, a base de bactérias ácido lácticas, leveduras, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus casei* - subespécie *ramnosus* e *Saccharomyces cerevisiae*. Em PB2_A a dose utilizada foi de 1ppm/dia - dose recomendada pelo fabricante e em PB2_B, 2ppm/dia - o dobro da dose recomendada pelo do fabricante. Nos tratamentos com aplicação de probióticos os produtos foram administrados diretamente na água dos tanques.

O inóculo inicial de bioflocos foi obtido com uma empresa comercial, preparado para início de um ciclo produtivo, sem a adição de probióticos. No laboratório, os tratamentos com inclusão de probióticos tiveram, nos três primeiros dias, as respectivas doses dobradas para maturação do sistema. Posteriormente, as pós-larvas ($13 \pm 4\text{mg}$; $12,8 \pm 1,6\text{mm}$) foram estocados ($n = 75$ por unidade experimental - tanques circulares de 100 L - com 70 L de volume útil) em sistema estático de bioflocos. O sistema foi disposto em sala climatizada para manutenção da temperatura, com sistema de aeração constante e foto período 12:12 h (claro:escuro). Para manutenção do balanço iônico do sistema, sachets contendo 20 g do produto comercial Lothar[®] (Cálcio (Ca) Min: 320g/Kg, Magnésio (Mg) Min: 20g/Kg, Matéria Mineral Min: 930 g/Kg e Umidade Máx: 40g/Kg) foram adicionados em cada unidade experimental.

As pós-larvas foram alimentadas quatro vezes ao dia. A taxa de arraçoamento utilizada foi calculada projetando um crescimento mínimo de um grama em 30 dias e ajustada semanalmente com base nas biometrias. Na primeira semana ofertou-se as rações StressPak 2/5 (Inve[®]) na primeira alimentação e Frippak PL+300 (Inve[®]) nas demais. Na segunda semana somente Frippak PL+300 foi ofertado. Na terceira semana foram ofertadas Guabitech Inicial PL (Guabi[®]) e Frippak PL+300, ambas duas vezes ao dia. Na quarta semana até o fim do experimento foram ofertados Guabitech Inicial PL (Guabi[®]) e PL Raceway 40-9 (Zeigler[®]), ambas duas vezes ao dia.

2.1.2 Qualidade de água

A temperatura e a concentração de oxigênio dissolvido foram monitoradas diariamente, o pH uma vez por semana (Multiparâmetro Hanna, HI 98196).

Semanalmente, foi determinada a salinidade (refratômetro manual - Atago®). Seguindo os protocolos contidos em Apha (2005), semanalmente, foram determinadas a dureza e a alcalinidade e as concentrações de amônia total e nitrito.

2.1.3 Análise microbiológica

Foi realizada a contagem presuntiva de unidades formadoras de colônia (UFCs) de *Vibrio spp.* em amostras de água. O plaqueamento e contagem de UFCs foi realizado no Núcleo Experimental de Micologia Aplicada, NEMA - UFPR, Palotina, Brasil.

Amostras de água de todas as unidades experimentais foram coletadas e enviadas imediatamente para realizar o plaqueamento, na 1^o, 2^o e 3^o e 4^o semanas de experimento. Foi preparada uma diluição de 1×10^{-1} (amostra / solução salina 0,85%), de cada amostra, obtidas por meio de diluição seriada. Foram adicionados 100 µl de cada diluição em placas de Petri contendo meio de cultura TCBS (ágar de tiosulfato, citrato, bÍlis e sacarose). As placas foram incubadas em estufa a 37° C por 18 horas, após o período de incubação foi realizada a contagem das UFCs.

2.1.4 Análise de sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST)

O volume dos sólidos sedimentáveis foi quantificado conforme Avnimelech (2009). Para determinação dos sólidos suspensos totais a metodologia descrita em Apha (2005) foi aplicada. Para ambas as análises, semanalmente foi coletada água de todas as unidades experimentais.

2.1.5 Desempenho zootécnico

Ao final do experimento todos os camarões foram contados, pesados e medidos (comprimento total) para determinar:

a) Sobrevivência:

$$S (\%) = \frac{NFC}{NIC} \times 100$$

Sendo:

S (%): porcentagem de sobrevivência

NFC: número final de camarões;

NIC: número inicial de camarões.

b) Ganho de Biomassa:

$$GB = (NFC \times PM) - BI$$

Sendo:

GB: ganho de biomassa;

NFC: número final de camarões;

PM: peso médio dos camarões.

BI: biomassa inicial

c) conversão alimentar aparente:

$$CAA: \frac{QRF}{GB}$$

Sendo:

CAA: conversão alimentar aparente;

QRF: quantidade de ração fornecida;

GB: ganho de biomassa

2.1.6 Avaliação do bem-estar animal

Para avaliação do bem-estar animal foi medido o comprimento total da antena (Kuhn et al., 2010) e calculado o Índice Escalonado de Massa (*IEM*; Peig e Green, 2009), usando a seguinte fórmula:

$$\widehat{M}_i = M_i \left[\frac{L_0}{L_i} \right]^{b_{SMA}}$$

Sendo:

\widehat{M}_i : massa estimada de cada indivíduo pelo IEM;

M_i e L_i : compreendem a massa do corpo e o comprimento padrão, respectivamente;

L_0 : valor aritmético médio de L_i ;

O expoente escalar b_{SMA} foi calculado pela fórmula:

$$b_{SMA} = \frac{b_{OLS}}{r}$$

Sendo:

b_{OLS} : inclinação da regressão linear entre o logaritmo de M_i e de L_i ;

r : coeficiente de correlação de Pearson obtido da mesma relação.

2.1.7 Contagem total e diferencial de hemócitos

Ao final do experimento, os camarões ($n = 10$ por tratamento) foram insensibilizados por termonarçose (Ashley, 2007) e tiveram a hemolinfa coletada. A hemolinfa dos camarões foi retirada por meio de seringa de 1 mL e agulha de 13 x 0.45 mm a partir do segundo segmento central (somito). A hemolinfa coletada foi colocada dentro de eppendorf juntamente com anticoagulante Alsever modificado a $\sim 4^\circ\text{C}$ na proporção de 1:9 (hemolinfa: anticoagulante; Vieira et al., 2016). A contagem total de hemócitos (CTH) foi realizada em câmara de Neubauer e calculada pela equação:

$$\text{CTH}/\text{mL}^{-1} = \frac{\text{N}^\circ \text{TCC}}{\text{N}^\circ \text{QC}} \times \text{FD} \times 10.000$$

Sendo:

CTH.mL⁻¹: contagem total de hemócitos por mililitro;

Nº TCC: número total de células contadas;

Nº QC: número de quadrante contados;

FD: fator de diluição.

A contagem de diferentes hemócitos (CDH) foi realizada por meio da técnica de esfregaço (Widanarni et al., 2014). Os esfregaços foram fixados, corados com Panótico (Instant Prov, NewProv®) e as lâminas observadas em microscópio (Olympus® CX21). Foram contadas o total de 50 células hemocíticas (granulócitos, semi-granulócitos e hialinas) de cada amostra, foram coletadas 10 amostras por tratamento e a porcentagem das células hialinas, foram calculadas por meio da seguinte equação:

$$\text{CDH (\%)} = \frac{\text{Nº TECC}}{\text{Nº TCC}} \times 100$$

Sendo:

CDH (%): Contagem diferencial de hemócitos;

Nº TECC: número específico de células contadas;

Nº TCC: número total de células contadas.

2.1.8 Análises estatísticas

Concentrações de amônia total, nitrito, sólidos suspensos totais, sólidos sedimentáveis, contagem total de *Vibrio* ssp. foram avaliadas por uma ANOVA de duas vias (realizou-se uma transformação logaritmica para ajustes dos dados). Peso, comprimento total, biomassa, conversão alimentar aparente, comprimento de antena, índice escalonado de massa e CTH foram testados por ANOVA de uma via. Antes da aplicação das análises estatísticas, os resultados foram submetidos a verificação dos pressupostos de normalidade e homocedasticidade. As médias das

analisadas foram comparadas pelo teste de Tukey. Todos os resultados foram testados ao nível de 5% (Zar, 2010).

RESULTADOS

Não foram determinadas diferenças significativas para as variáveis de qualidade de água: temperatura, oxigênio dissolvido, pH, salinidade, alcalinidade e dureza monitoradas durante o experimento ($P>0,05$). Os valores médios e desvio padrão destas variáveis são apresentados na Tabela 1.

Tabela1: Valores médio (\pm D.P.) das variáveis de qualidade de água monitoradas durante o período experimental. FONTE: Ferreira, 2022.

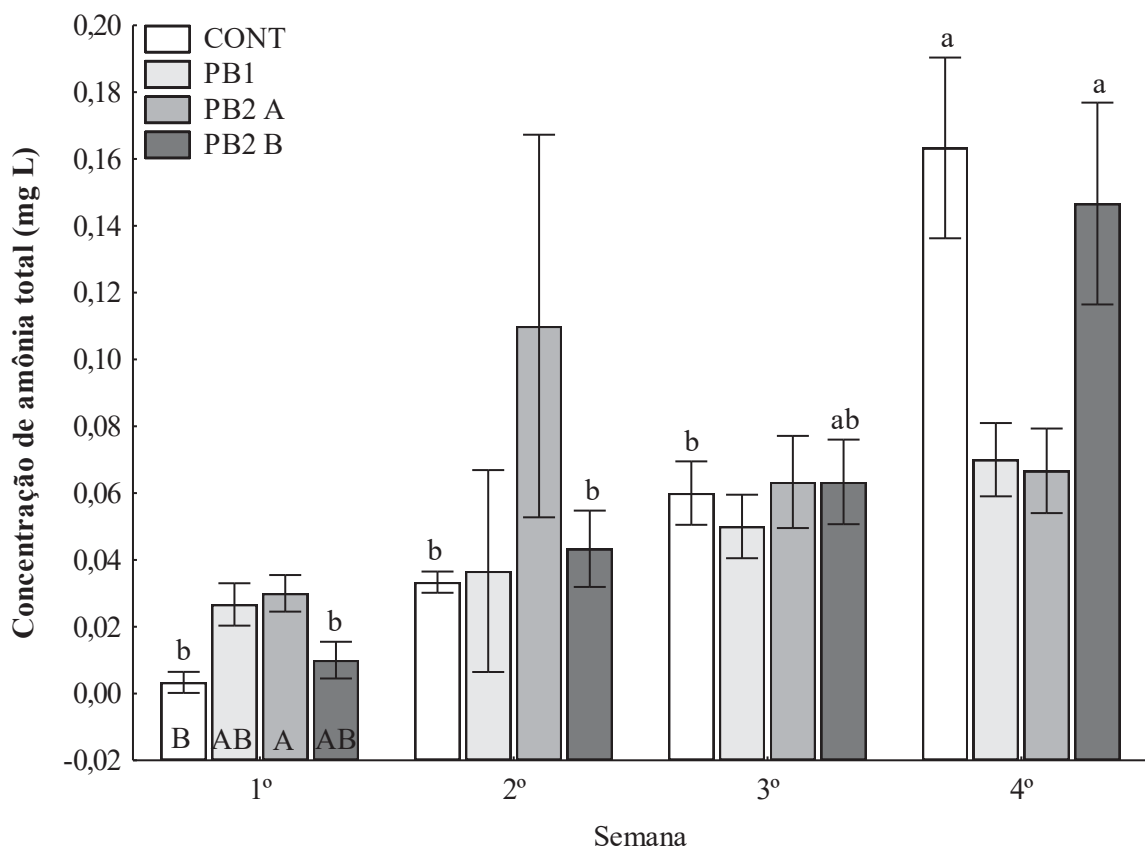
Variáveis	CONT	PB1	PB2 _A	PB2 _B	Valores recomendados
Temperatura (°C)	28,7 \pm 0,3	28,9 \pm 0,1	28,9 \pm 0,10	28,6 \pm 0,10	28-32
Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	7,51 \pm 0,07	7,50 \pm 0,07	7,55 \pm 0,07	7,49 \pm 0,07	>5.0
pH	9,04 \pm 0,03	8,75 \pm 0,07	9,99 \pm 0,96	9,05 \pm 0,03	6-9
Salinidade (ppt)	21,32 \pm 0,44	21,15 \pm 0,28	21,45 \pm 0,32	21,00 \pm 0,30	0,5-35
Alcalinidade (mg.L ⁻¹ deCaCO ₃)	132,8 \pm 50,52	134,4 \pm 47,62	138,2 \pm 41,38	134,8 \pm 42,25	>100
Dureza (mg.L ⁻¹ de CaCO ₃)	814,3 \pm 136,7	953,3 \pm 111,7	925,0 \pm 133,9	717,6 \pm 377,7	>100

*Valores recomendados (Van Wyk and Scarpa, 1999), (Boyd, 1979); (Cheng et al., 2003), (Bett and Vinatea, 2009); FONTE: Ferreira, 2022.

Quando comparados os níveis de amônia total entre os tratamentos é possível observar que apenas na primeira semana houve diferença significativa entre as concentrações ($P<0,05$), A maior concentração de amônia total na primeira

semana ocorreu no tratamento PB2_A, o tratamento CONT teve a menor concentração de amônia total na primeira semana e os tratamentos PB1 e PB2_A não diferiram dos demais tratamentos ($P>0,05$; Figura 1). Ao comparar cada tratamento ao longo do tempo é possível observar que os tratamentos CONT e PB2_B tiveram variações na quarta semana ($P<0,05$). Os tratamentos PB1 e PB2_A mantiveram as concentrações de amônia total constantes ao longo do experimento ($P>0,05$; Figura 1).

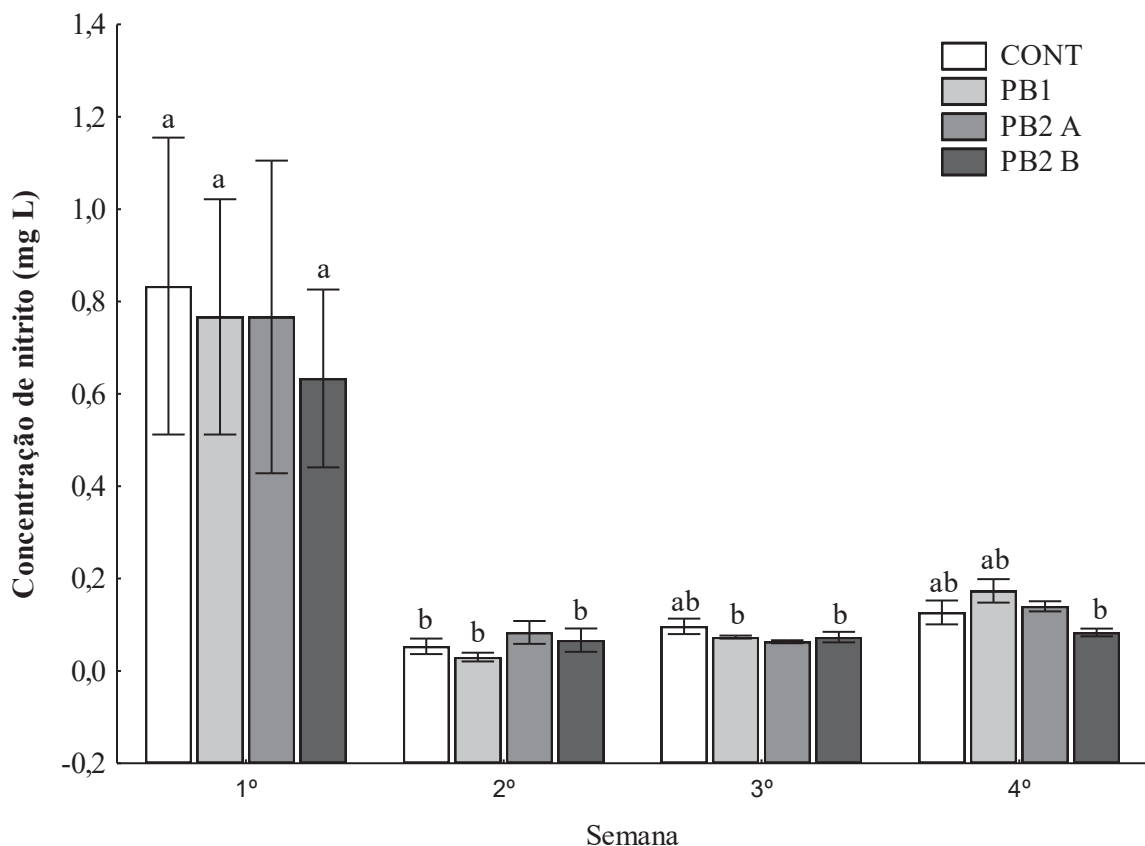
Figura 1. Média (\pm E.P.) da concentração de amônia total nos diferentes tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas diferentes no mesmo tratamento indicam diferença ao longo do tempo ($P<0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma semana apontam diferença significativa entre os tratamentos ($P<0,05$).



FONTE: Ferreira, 2022.

Ao comparar a concentração de nitrito entre os tratamentos se observa que as concentrações foram equivalentes ao longo das semanas ($P>0,05$). Mas quando comparado cada tratamento ao longo do tempo observa-se que os tratamentos CONT, PB1 e PB2_B tiveram um pico de nitrito na primeira semana ($P<0,05$), e nas semanas subsequentes as concentrações de nitrito permaneceram constantes ($P>0,05$). No tratamento PB2_A as concentrações de nitrito ficaram constantes ao longo de todo o experimento ($P>0,05$).

Figura 2. Média (\pm E.P.) da concentração de nitrito nos diferentes tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas diferentes no mesmo tratamento indicam diferença significativa ao longo do tempo ($P<0,05$).

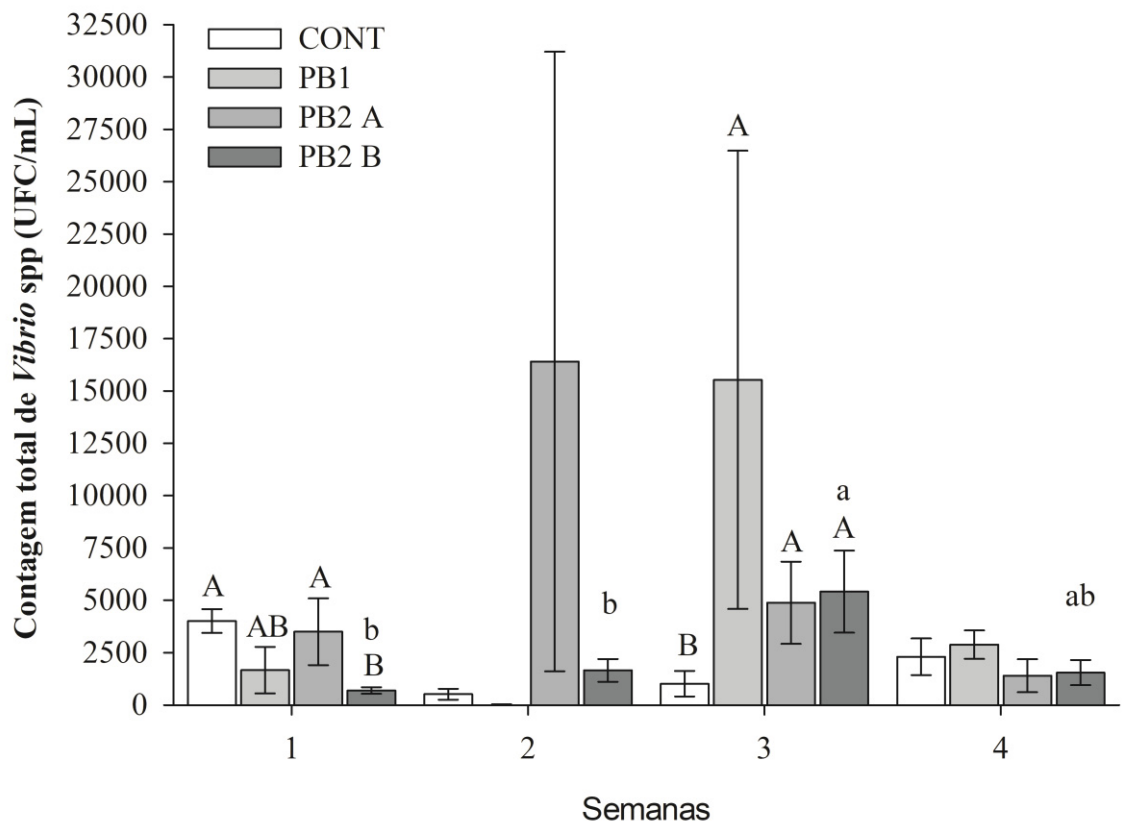


FONTE: Ferreira, 2022.

A contagem presuntiva de *Vibrio spp* foi significativamente diferente ($P<0,05$) entres os tratamentos na primeira e na terceira semanas. Quando comparado o

mesmo tratamento ao longo do tempo, observa-se que apenas o tratamento PB2_B teve um aumento significativo nas concentrações de *Vibrio spp.* na terceira semana ($P<0,05$), os demais tratamentos mantiveram as concentrações constantes ($P>0,05$).

Figura 3. Média (\pm E.P.) da contagem presuntiva de *Vibrio spp* nos diferentes tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas diferentes no mesmo tratamento indicam diferença ao longo do tempo ($P<0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma semana apontam diferença significativa entre os tratamentos ($P<0,05$).



FONTE: Ferreira, 2022.

Os sólidos suspensos totais não diferiram significativamente entre os tratamentos e também não diferiram ao longo do tempo ($P>0,05$; Tabela 2).

Tabela 2: Valores médio (\pm D.P.) de sólidos suspensos totais para *L. vannamei* submetidos à testes com diferentes probióticos.

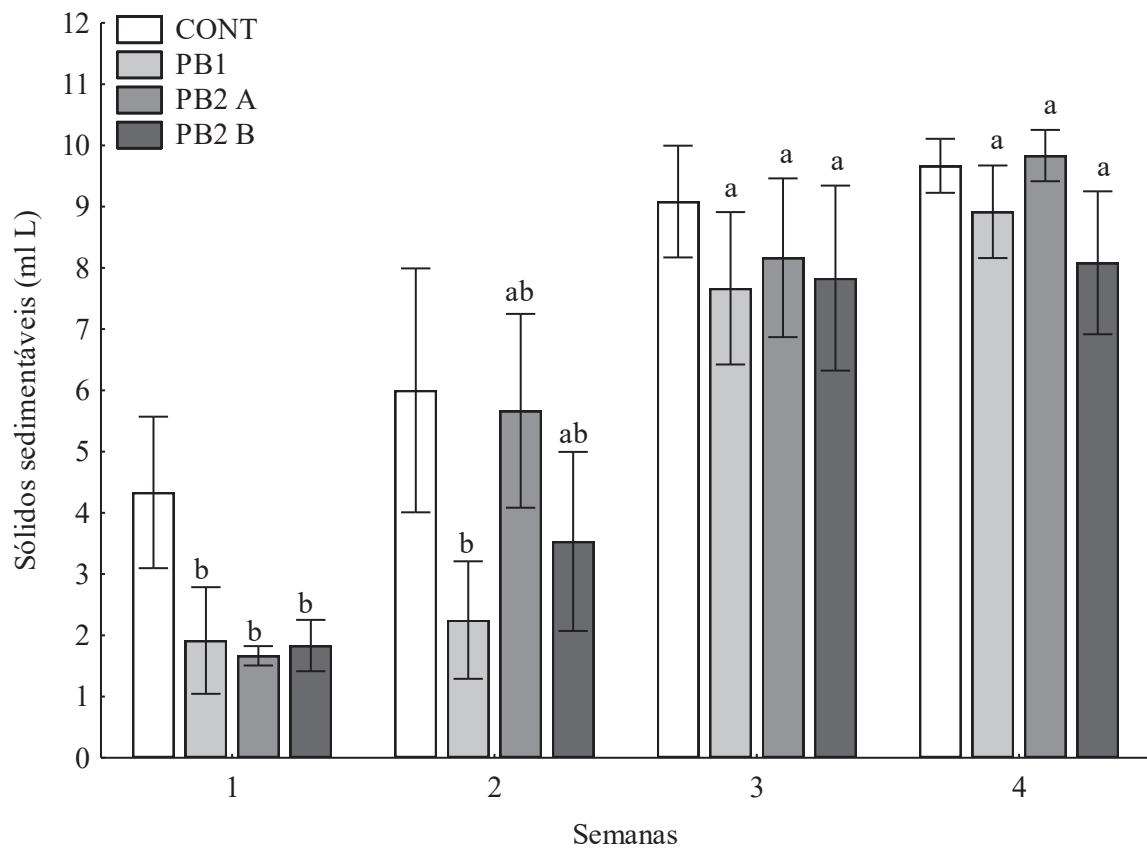
SST (ml/L)	CONT	PB1	PB2A	PB2B
------------	------	-----	------	------

1º Semana	553,4±84,5	613,3±55,9	515,0±5,0	835,0±109,7
2º Semana	536,7±62,7	550,0±29,3	543,3±71,0	610,0±138,7
3º Semana	571,7±41,9	531,7±138,2	643,3±97,3	634,3±105,5
4º Semana	513,3±114,0	658,3±110,1	735,0±108,9	686,7±133,6

FONTE: Ferreira, 2022.

Ao longo do experimento todos os tratamentos obtiveram acúmulo de sólidos sedimentáveis e foram identificadas diferenças significativas dentro dos tratamentos ao longo do tempo ($P < 0,05$; Figura 4).

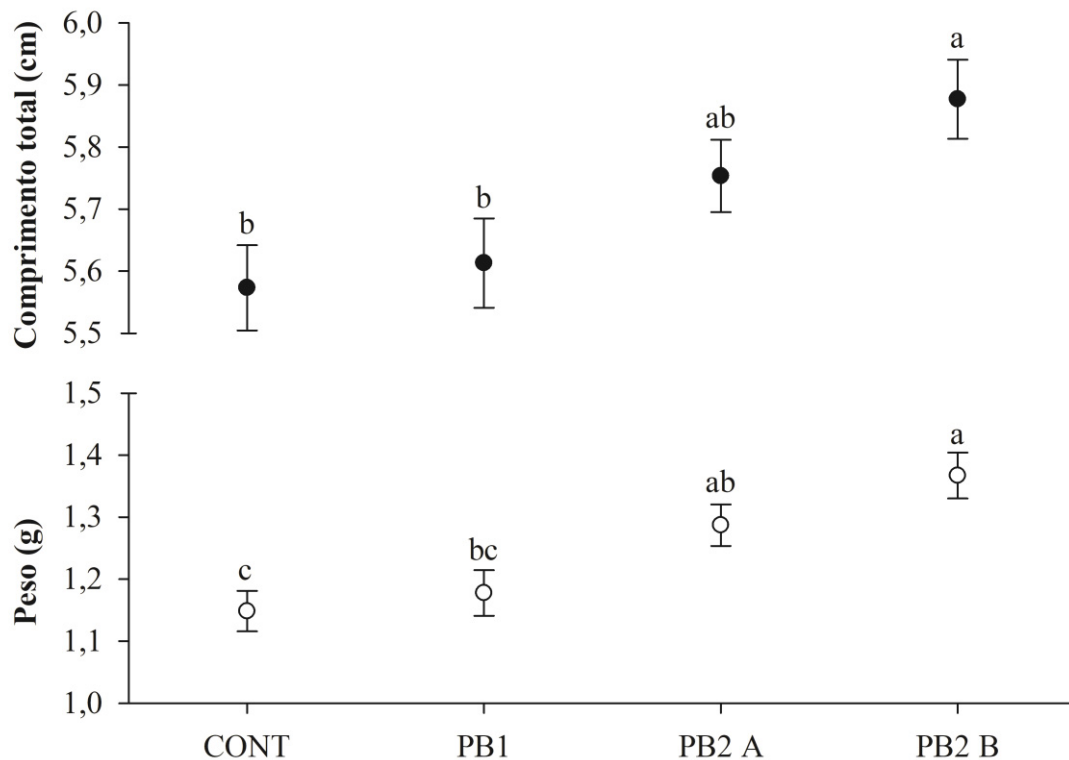
Figura 4. Média (\pm E.P.) dos sólidos sedimentáveis nos diferentes tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas diferentes no mesmo tratamento indicam diferença ao longo do tempo ($P < 0,05$).



FONTE: Ferreira, 2022

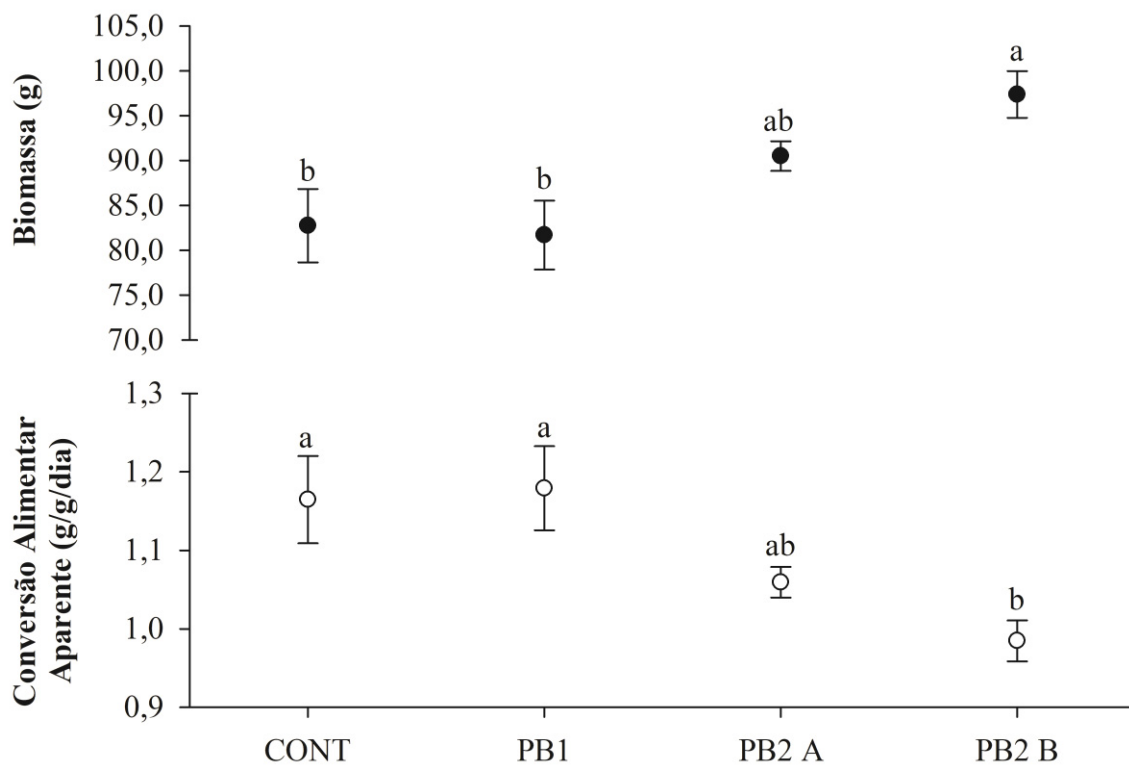
Não foi determinada diferença significativa para a sobrevivência ($P>0,05$) entre os tratamentos testados, variando de 92 a 96%. Os índices zootécnicos peso, comprimento, ganho de biomassa e conversão alimentar foram significativamente melhores no tratamento PB2_B quando comparado com os tratamentos CONT e PB1 ($P<0,05$). O tratamento PB2_A teve resultado melhor ($P<0,05$) em relação ao peso quando comparado ao tratamento CONT. O tratamento PB1 apresentou resultados similares ao CONT ($P>0,05$) em todos os parâmetros zootécnicos (Figuras 5 e 6).

Figura 5. Média (\pm E.P.) do peso e do comprimento finais nos diferentes tratamentos. Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos ($P<0,05$).



FONTE: Ferreira, 2022

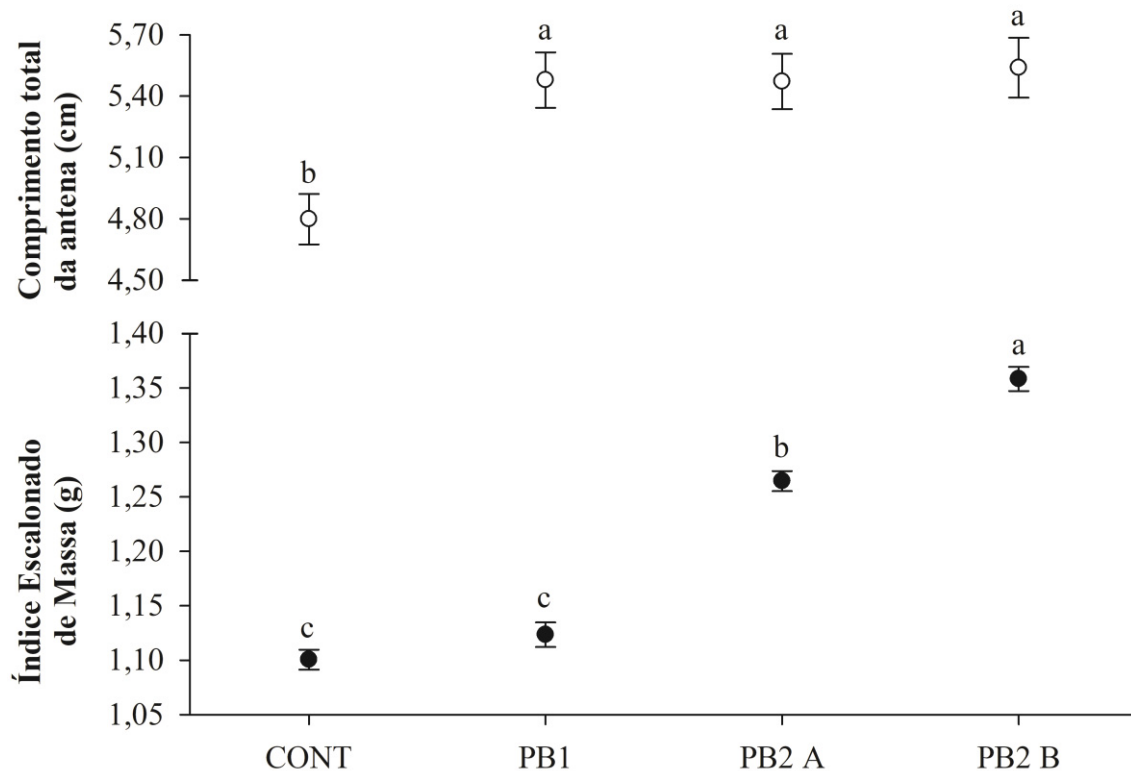
Figura 6. Média (\pm E.P.) de ganho de biomassa e conversão alimentar aparente nos diferentes tratamentos. Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos ($P<0,05$).



FONTE: Ferreira, 2022.

No bem-estar animal, observou-se que, para o comprimento da antena, todos os tratamentos com inclusão de probióticos apresentaram resultados significativamente maiores ($P < 0,05$) em relação ao CONT. Além disso, ao compararmos os resultados de IEM nos tratamentos PB2_A e PB2_B, observamos que estes surtiram efeitos significativamente superiores em relação ao estado físico dos animais em comparação com os demais tratamentos e que PB2_B teve resultado significativamente superior em relação a PB2_A ($P < 0,05$; Figura 7).

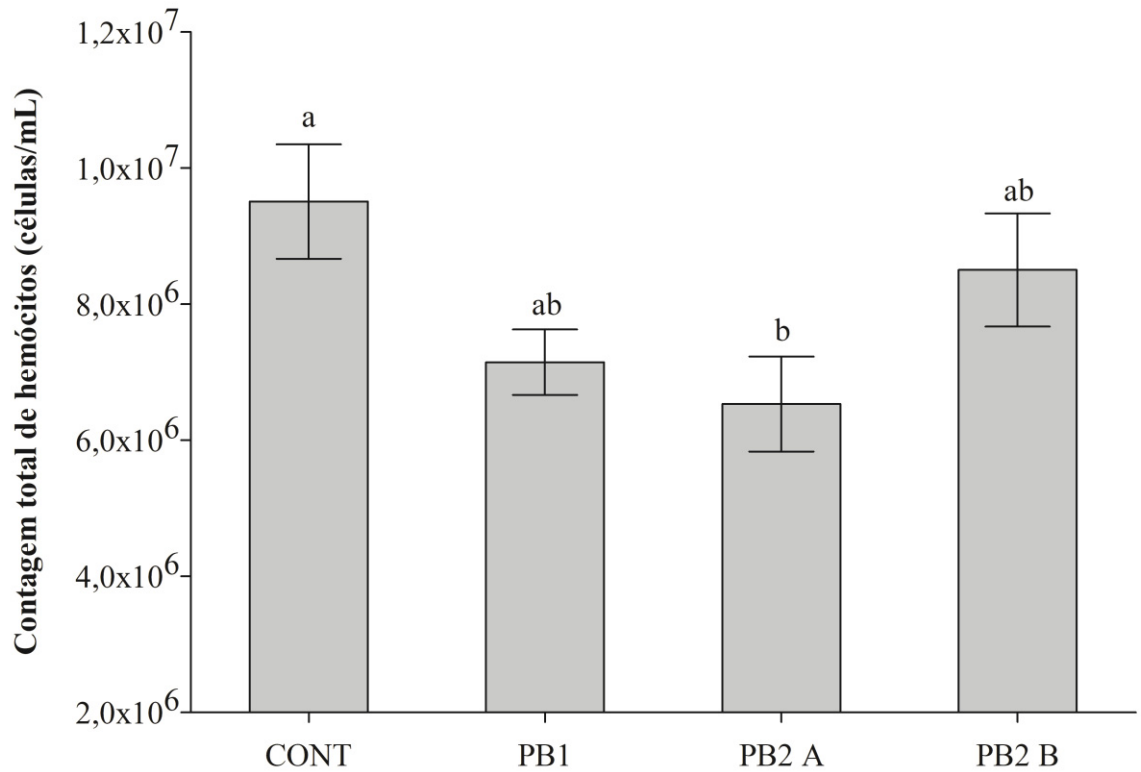
Figura 7. Média (\pm E.P.) de comprimento da antena e índice escalonado de massa nos diferentes tratamentos. Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$).



FONTE: Ferreira, 2022

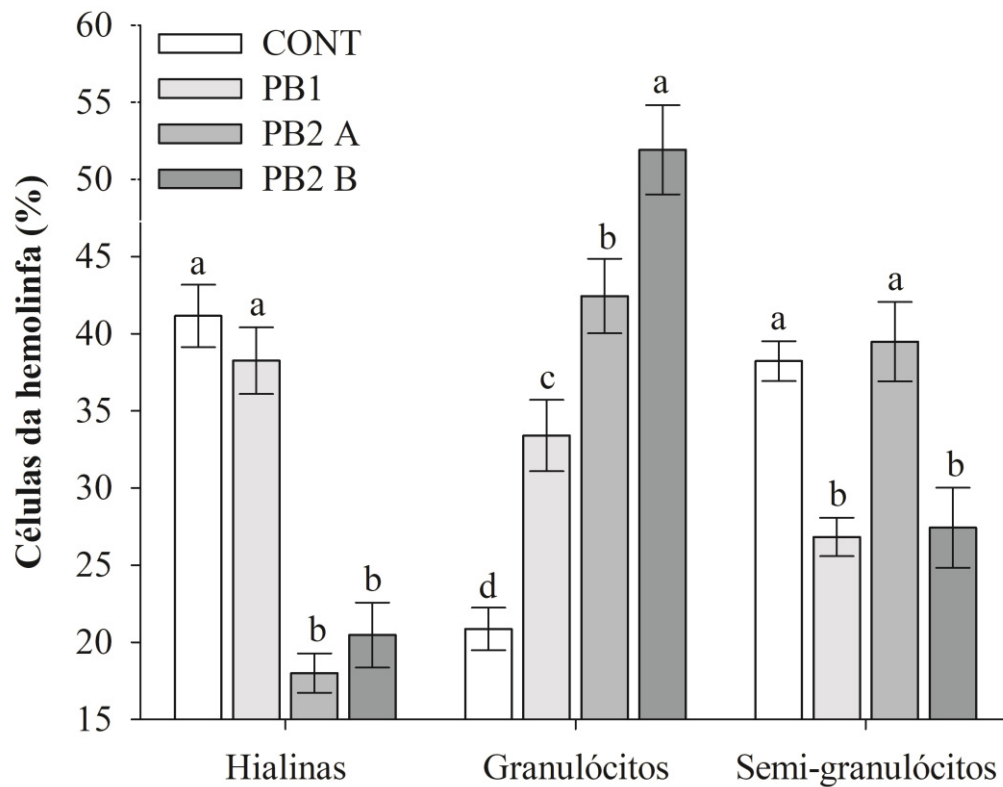
A contagem total de hemócitos foi significativamente menor no tratamento PB2_A em relação ao tratamento CONT ($P < 0,05$), não foram determinadas variações significativas entre os demais tratamentos (Figura 8). Em relação a diferenciação das células hemocíticas, foi observado que os tratamentos CONT e PB1 obtiveram quantidades significativamente maiores de células hialinas do que os tratamentos PB2_A e PB2_B ($P < 0,05$). Para as células de granulócitos, os tratamentos com uso de probiótico (PB1, PB2_A e PB2_B) tiveram quantidades significativamente maiores do que no tratamento sem probiótico (CONT; $P < 0,05$), e os tratamentos que utilizaram o probiótico líquido (PB2_A e PB2_B) obtiveram quantidades significativamente maiores de células de granulócitos do que o tratamento com probiótico em pó - PB1 ($P < 0,05$). Já as células de semi-granulocitos tiveram quantidades maiores no tratamento CONT e PB2_A e quantidades menores nos tratamentos PB1 e PB2_B ($P < 0,05$; Figura 9).

Figura 8. Média (\pm E.P.) de contagem total de hemócitos nos diferentes tratamentos. Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos ($P<0,05$).



FONTE: Ferreira, 2022

Figura 9: Média (\pm E.P.) das porcentagens de células hemocíticas nos diferentes tratamentos. Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos ($P<0,05$).



FONTE: Ferreira, 2022

3 DISCUSSÃO

As maiores concentrações de amônia total e nitrito registradas durante o experimento estiveram dentro do nível de segurança estabelecido para juvenis de *L. vannamei* em salinidade entre 25 e 35 g L⁻¹ (Lin e Chen, 2001; Lin e Chen, 2003). Dessa forma, podemos afirmar que esses parâmetros não influenciaram nos resultados obtidos. Mesmo o nitrito tendo ficado dentro do recomendado para espécie estudada, é possível observar maior concentração na primeira semana, possivelmente, em virtude do sistema ainda não estar totalmente maturado. A diminuição nas concentrações de nitrito nas semanas seguintes é um indicativo do processo de maturação dos bioflocos e equilíbrio do sistema. Segundo Otoshi e Moss (2011), o sistema de bioflocos pode levar até 20 dias para ficar totalmente maturado, e nesse período, é comum ocorrerem flutuações nas concentrações dos compostos nitrogenados.

Valores de pH acima do recomendado para o *L. vannamei* (Van wyk et al., 1999) foram observados em todos os tratamentos. No entanto, em função do bom desempenho apresentado pelos camarões, acreditamos que o pH não teve influência negativa durante o experimento. A toxicidade da amônia para organismos aquáticos é diretamente proporcional ao valor de pH, quanto mais alcalino, maior a proporção de amônia tóxica (forma não ionizada; Randall & Tsui, 2002; Van Wyk et al., 1999). Porém, da mesma forma, a concentração de amônia tóxica parece não ter causado efeito negativo, uma vez que a sobrevivência ficou acima de 90% em todos os tratamentos.

Nos tratamentos nos quais os probióticos foram utilizados, os SST permaneceram abaixo do limite máximo aceitável para espécie (800 mg L⁻¹; Schweitzer et al., 2013b). O CONT apresentou valores de SST maiores do que o recomendado na primeira semana. Os altos valores de SST na primeira semana podem estar correlacionados com a maior concentração de nitrito observada. As concentrações de compostos nitrogenados podem afetar o consumo alimentar dos organismos produzidos (Kuhn et al., 2010), o que acarreta em acúmulo de SST em virtude de sobras de ração no sistema (Ray et al., 2014). Também é possível observar que, com a redução da concentração de nitrito, também houve a redução nos valores de SST, o que corrobora esta observação.

O aumento dos níveis de sólidos sedimentáveis ao longo do período experimental já era esperado devido ao acúmulo de matéria orgânica ao longo do experimento. Mas esse aumento não afetou o desempenho zootécnico dos camarões. Segundo Gaona et al. (2017), valores de sólidos sedimentáveis menores que 11,48 mg L⁻¹ não afetam o desempenho e ajudam a manter qualidade de água adequada para produção de organismos aquáticos em BFT.

Segundo Balcázar et al. (2006) e Kesarcodi-Watson et al. (2008) os probióticos tem como uma das funções prevenir doenças por meio do controle da proliferação de bactérias do gênero *Vibrio*. De acordo com estudos prévios, concentrações de *Vibrio spp* maiores que 10⁴ UFC mL⁻¹ causam danos aos camarões (Liu e Chen, 2004; Tseng e Chen, 2004; Cheng et al., 2005; Wang e Chen, 2005). No presente estudo houveram picos de *Vibrio spp.* registrados no tratamento PB1 na segunda e na terceira semanas, que ultrapassaram esse limite

de concentração. Apesar de não ter sido registrada mortalidade significativamente maior neste tratamento, a presença destas bactérias em maiores concentrações pode ter influenciado negativamente o desempenho dos camarões.

A sobrevivência não diferiu significativamente entre os tratamentos, nos mostrando que os probióticos testados não influenciaram nesse parâmetro. Resultados semelhantes foram encontrados por Reddy et al. (2020). O probiótico utilizado no tratamento PB1 apresentou resultados zootécnicos inferiores aos encontrados nos tratamentos com probiótico líquido. Esse resultado inferior pode ser justificado devido a esse probiótico, quando adicionado em água, ter como principal função o controle e prevenção a doenças (Olmos et al., 2011; Kumar et al., 2016). Isso ocorre devido as bactérias do gênero *Bacillus* serem capazes de gerar peptídeos antimicrobianos que por sua vez geram um efeito imunestimulador (Barbosa et al., 2005). Abdollahi-Arpanahi et al., (2018), observou resultados melhores do que os desse estudo quando adicionou o probiótico composto por *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* na ração, dessa forma esse tipo de probiótico foi capaz de potencializar o crescimento e imunofisiologia de *L. vannamei*.

O probiótico testado nos tratamentos PB2_A e PB2_B que é composto principalmente por bactérias ácidoláticas, leveduras, *B. subtilis*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus casei* e *Saccharomyces cerevisiae*, influenciou diretamente no desempenho dos camarões. Segundo Vieira et al., (2007) os probióticos que possuem na sua composição bactérias ácido lácticas geram melhores respostas nos índices zootécnicos. Bactérias ácido lácticas fornecerem uma melhor biota para o trato digestivo dos camarões, assim tornando mais eficiente a digestão e absorção dos nutrientes (Gomez-Gil, 2000). O valor de pH no trato digestório afeta diretamente as concentrações de bactérias, os probióticos constituídos por bactérias lácteas, por possuírem a capacidade de reduzir os valores do pH por meio do processo de conversão de lactose em ácido lácteo, colonizando, o trato gastrointestinal com as concentrações adequadas de bactérias (Senok et al., 2005), geram assim, maior eficiência na absorção dos nutrientes. Esse probiótico também influencia o desempenho dos camarões devido ao mix de bactérias, nos quais cada microrganismo é responsável por contribuir em uma função específica, dessa forma esse tipo de probiótico é capaz de gerar benefícios em várias áreas (Williams et al.,

2010). Segundo Wang et al. (2019) misturas de diferentes micro-organismos (*Lactobacillus pentosus*, *L. fermentum*, *Bacillus subtilis*, e *Saccharomyces cerevisiae*) geram uma maior eficiência no crescimento e estado de saúde dos camarões.

Os melhores resultados em desempenho zootécnico estão intimamente relacionado a condição de bem-estar animal (Azim and Little, 2008). Como foi observado, os camarões dos tratamentos com uso de probióticos apresentaram maior comprimento de antena, sendo esse um indicativo que os probióticos melhoram as condições de bem-estar dos camarões. Furtado et al. (2015) e Kutty and Valenti (2010), afirmam que a antena, por ser um órgão de extrema importância para as funções tátil e olfativa e para o equilíbrio durante a locomoção ou natação, e, por não se regeneram no processo de ecdise (Narchi, 1973), pode refletir a condição de bem-estar do animal. Além disso, o IEM, indica a saúde e o tamanho relativo de armazenamentos de energia independentemente do sexo ou tamanho do indivíduo (Peig and Green, 2009). Observamos que os camarões dos tratamentos PB2_A e PB2_B apresentaram as melhores condições de bem-estar, uma vez que quanto maior for essa relação melhor será o bem-estar e mais saudáveis os camarões estarão (Peig and Green, 2009).

Segundo Costa (2012) a hemolinfa também pode ser utilizada para avaliar as condições de bem-estar dos invertebrados. Nos camarões são observados granulócitos presentes na hemolinfa que refletem as condições de saúde desses organismos (Llario et al., 2019). Conforme a inclusão do probiótico líquido avaliado neste estudo observamos melhor efeito sobre esse parâmetro em relação aos demais tratamentos, apresentando maior concentração de granulócitos. Os granulócitos possuem a capacidade de combater patógenos, utilizando mecanismos, e.g., processos fagocitários, de encapsulação, citotoxicidade, armazenamento e liberação de profenoloxidase no sistema (Johansson, 2000; Cuéllar, 2008). Desta forma o probiótico utilizado nos tratamentos PB2_A e PB2_B proporcionaram aos animais melhor capacidade imunológica do que os demais. Probióticos com *B. amyloliquefaciens* reduzem as concentrações de células hialinas e aumentam a concentração de células de granulócitos, que, por sua vez, fazem com que os camarões apresentem um melhor bem-estar (Llario, 2019).

4 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que o probiótico líquido, usado nos tratamentos PB2_A e PB2_B proporcionou melhor controle de bactérias do gênero *Vibrio*, melhores índices relacionados ao bem-estar animal, como comprimento de antena, IEM, maior quantidade de granulócitos na hemolinfa e melhor desempenho zootécnico dos camarões. Além disso, a dose de 2ppm/dia utilizada no tratamento PB2_B proporcionou resultados significativamente superiores ($P < 0,05$), desta forma, recomendasse esta dose para a produção de *L. vannamei* durante a fase de berçário em sistema BFT.

5 REFERÊNCIAS

Ayaz, M., Sumara, K., Vadher, K. H., & Ishakani, A. H. (2015). Effect of higher salinities on growth and survival of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Journal of Applied and Natural Science*, 7(2), 885-888. <https://doi.org/10.31018/jans.v7i2.701>.

Abdollahi-Arpanahi, D, Soltani, E, Jafaryan, H, Soltani, M, Naderi-Samani, M, & Campa-Córdova, AI (2018). Efficacy of two commercial and indigenous probiotics, *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunophysiology and resistance response of juvenile white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 496(1), 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.082>.

Ahmad, I., Rani, A. B., Verma, A. K., & Maqsood, M. (2017). Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. *Aquaculture International*, 25(3), 1215-1226. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0108-8>.

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, & Water Environment Federation. (1915). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 2). American Public Health Association.

APHA, 2005. *Standard Methods of Water and Wastewater*. 21st Edn., American Public Health Association, Washington, 0875530478, pp: 2-61. APHA, 2005. *Standard Methods of Water and Wastewater*. 21st Edn., American Public Health Association, Washington, 0875530478, pp: 2-61.

Ashley, PJ (2007). Fish welfare: current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104(3-4), 199-235. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.09.001>.

Avnimelech, Y. (2009). *Biofloc technology: a practical guide book*. World Aquaculture Society.

Azim, M. E., & Little, D. C. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283(1-4), 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>.

Azim, M. E., & Little, D. C. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283(1-4), 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>.

Balcázar, J. L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., & Múzquiz, J. L. (2006). The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary microbiology*, 114(3-4), 173-186. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.01.009>.

Barbieri, E., Mendonça, J. T., & Paes, E. T. (2007). Ocorrência de espécies exóticas na comunidade do Jairé no rio Ribeira de Iguape. *Estudos de Biologia*, 29(68/69). <https://doi.org/10.7213/reb.v29i68/69.22777>.

Ballester, E. L. C., Abreu, P. C., Cavalli, R. O., Emerenciano, M., De Abreu, L., & Wasielesky Jr, W. (2010). Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition*, 16(2), 163-172. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00648.x>.

Barbosa, TM, Serra, CR, La Ragione, RM, Woodward, MJ, & Henriques, AO (2005). Rastreo de isolados de *Bacillus* no trato gastrointestinal de frangos de corte. *Microbiologia aplicada e ambiental*, 71 (2), 968-978.

Bett, C., & Vinatea, L. (2009). Combined effect of body weight, temperature and salinity on shrimp *Litopenaeus vannamei* oxygen consumption rate. *Brazilian Journal of Oceanography*, 57, 305-314.

Boyd, C. E. (1979). *Water quality in warmwater fish ponds* (No. 639.3 B6923w Ej. 1 009523). AUBURN UNIVERSITY,.

Brito, L. O., Chagas, A. M., da Silva, E. P., Soares, R. B., Severi, W., & Gálvez, A. O. (2016). Water quality, Vibrio density and growth of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in an integrated biofloc system with red seaweed *Gracilaria birdiae* (Gracilaria). *Aquaculture Research*, 47(3), 940-950. <https://doi.org/10.1111/are.12552>.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., & Verstraete, W. (2012). Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356, 351-356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>.

Cheng, W., Liu, C. H., & Kuo, C. M. (2003). Effects of dissolved oxygen on hemolymph parameters of freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture*, 220(1-4), 843-856. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00534-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00534-3).

Cheng, W., Wang, L. U., & Chen, J. C. (2005). Effect of water temperature on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* to *Vibrio alginolyticus*. *Aquaculture*, 250(3-4), 592-601. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.060>.

Chung, J., Amin, K., Kim, S., Yoon, S., Kwon, K., & Bae, W. (2014). Autotrophic denitrification of nitrate and nitrite using thiosulfate as an electron donor. *Water research*, 58, 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.071>.

Cuéllar-Anjel, J. Métodos de diagnósticos de enfermedades en camarones marinos de cultivo. In *Guía Técnica: Patología e Inmunología de Camarones Peneidos*, 1st ed.; Morales, V., Cuéllar-Anjel, J., Eds.; Programa CYTED Red II-D *Vannamei*: City of Panama, Panama, 2008; pp. 1-54.

Costa, R. A., Colares, L. P., Lima, R. A., Fernandes Vieira, R. H. S. D., & de Sousa, O. V. (2012). Effect of seawater on the activity of antibiotics against *Vibrios* isolated from the hemolymph of cultured pacific white shrimp. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43(5), 727-732. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2012.00590.x>.

Das, S., Mondal, K., & Haque, S. (2017). A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable development of aquaculture. *growth*, 14, 15.

Defoirdt, T., Sorgeloos, P., & Bossier, P. (2011). Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. *Current opinion in microbiology*, 14(3), 251-258. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.03.004>

do Nascimento Vieira, F, Pedrotti, FS, Neto, CCB, Mouriño, JLP, Beltrame, E, Martins, ML, & Arana, LAV (2007). Lactic-acid bacteria increase the survival of marine shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after infection with *Vibrio harveyi*. *Brazilian Journal of Oceanography*, 55(4), 251-255. <https://doi.org/10.1590/S1679-87592007000400002>.

Emerenciano, M., Cuzon, G., Paredes, A., & Gaxiola, G. (2013). Evaluation of biofloc technology in pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* culture: growth performance, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of biofloc. *Aquaculture international*, 21(6), 1381-1394.

Emoto, T., Yamashita, T., Sasaki, N., Hirota, Y., Hayashi, T., So, A., ... & Hirata, KI (2016). Análise da microbiota intestinal em pacientes com doença arterial coronariana: uma possível ligação entre a microbiota intestinal e a doença arterial coronariana. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 32672. <https://doi://doi.org/10.5551/jat.32672>.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Global Aquaculture Production 1950-2017. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/globalaquaculture-production/query/en>. Acesso em: 20 de junho 2022.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/I9540EN/> Acesso em: 20 de junho 2022.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf> Acesso em: 20 de junho 2022.

Furtado, P. S., Campos, B. R., Serra, F. P., Klosterhoff, M., Romano, L. A., & Wasielesky, W. (2015). Effects of nitrate toxicity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT). *Aquaculture international*, 23(1), 315-327. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9817-z>.

Gaona, C. A. P., da Paz Serra, F., Furtado, P. S., Poersch, L. H., & Wasielesky Jr, W. (2016). Effect of different total suspended solids concentrations on the growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a BFT system. *Aquacultural Engineering*, 72, 65-69. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.03.004>.

Gaona, C. A. P., Poersch, L. H., Krummenauer, D., Foes, G. K., & Wasielesky, W. J. (2011). The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system.

Gaona, CAP, de Almeida, MS, Viau, V., Poersch, LH, & Wasielesky Jr, W. (2017). Efeito de diferentes níveis de sólidos suspensos totais em um sistema de cultura de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT durante a formação de bioflocos. *Aquaculture Research*, 48 (3), 1070-1079. <https://doi.org/10.1111/are.12949>.

Gomez-Gil, B, Roque, A, & Turnbull, JF (2000). The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, 191(1-3), 259-270. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00431-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00431-2).

Haslun, J. A., Correia, E., Strychar, K., Morris, T., & Samocha, T. (2012). Characterization of bioflocs in a no water exchange super-intensive system for the production of food size pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *International Journal of Aquaculture*, 2(1). <https://doi: 10.5376 / ija.2012.02.0006>.

Hargreaves, J. A. (2013). *Biofloc production systems for aquaculture* (Vol. 4503, pp. 1-11). Stoneville, MS: Southern Regional Aquaculture Center.

Hlordzi, V., Kuebutornye, FK, Afriyie, G., Abarike, ED, Lu, Y., Chi, S., & Anokyewaa, MA (2020). O uso de espécies de Bacillus na manutenção da qualidade

da água na aquicultura: Uma revisão. *Aquaculture Reports*, 18 , 100503. [https://doi:10.1016/j.aqrep.2020.100503](https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100503).

Javadi, A., & Khatibi, S. A. (2017). Effect of commercial probiotic (Protexin®) on growth, survival and microbial quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Nutrition & Food Science*.

Johansson, MW, Keyser, P, Sritunyalucksana, K, & Söderhäll, K (2000). Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*, 191(1-3), 45-52. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00418-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00418-X).

Kamilya, D., Debbarma, M., Pal, P., Kheti, B., Sarkar, S., & Singh, S. T. (2017). Biofloc technology application in indoor culture of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings: The effects on inorganic nitrogen control, growth and immunity. *Chemosphere*, 182, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.021>.

Kaur, S., Sharma, P., Kalia, N., Singh, J., & Kaur, S. (2018). Propriedades anti-biofilme dos lactobacilos probióticos fecais contra *Vibrio spp.* *Fronteiras em microbiologia celular e de infecção*, 8 , 120.

Kesarcodi-Watson, A., Kaspar, H., Lategan, M. J., & Gibson, L. (2008). Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274(1), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.019>.

Kuhn, DD, Smith, SA, Boardman, GD, Angier, MW, Marsh, L, & Flick Jr, GJ (2010). Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, 309(1-4), 109-114. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.014>.

Kumar, V., Roy, S., Meena, D. K., & Sarkar, U. K. (2016). Application of probiotics in shrimp aquaculture: importance, mechanisms of action, and methods of administration. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 24(4), 342-368. <https://doi.org/10.1080/23308249.2016.1193841>.

Kutty, M. N., & Valenti, W. C. (2010). Culture of other freshwater prawn species. *Freshwater prawns: biology and farming*. Blackwell Publishing, Oxford, 502-523.

Liu, C. H., Yeh, S. T., Cheng, S. Y., & Chen, J. C. (2004). The immune response of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio* infection in relation with the moult cycle. *Fish & shellfish immunology*, 16(2), 151-161. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(03\)00058-5](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(03)00058-5).

Lin, Y. C., & Chen, J. C. (2001). Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 259(1), 109-119. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(01\)002271](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(01)002271).

Lin, Y. C., & Chen, J. C. (2003). Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224(1-4), 193-201. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00220-5)

Llario, F., Falco, S., Sebasti a-Frasquet, MT, Escriv a, J., Rodilla, M., & Poersch, LH (2019). O papel do *Bacillus amyloliquefaciens* em *Litopenaeus vannamei* durante a maturac o de um sistema de bioflocos. *Journal of Marine Science and Engineering*, 7 (7), 228. <https://doi.org/10.3390/jmse7070228>.

Martinez-Porchas, M., Ezquerro-Brauer, M., Mendoza-Cano, F., Higuera, J. E. C., Vargas-Albores, F., & Martinez-Cordova, L. R. (2020). Effect of supplementing heterotrophic and photoautotrophic biofloc, on the production response, physiological condition and post-harvest quality of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 16, 100257. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100257>.

Mcintosh, D., Samocha, T. M., Jones, E. R., Lawrence, A. L., Horowitz, S., & Horowitz, A. (2001). Effects of two commercially available low-protein diets (21% and 31%) on water and sediment quality, and on the production of *Litopenaeus vannamei* in an outdoor tank system with limited water discharge. *Aquacultural Engineering*, 25(2), 69-82. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(01\)00073-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(01)00073-5).

Miandare, H. K., Yarahmadi, P., & Abbasian, M. (2016). Immune related transcriptional responses and performance of *Litopenaeus vannamei* post-larvae fed on dietary probiotic PrimaLac®. *Fish & Shellfish Immunology*, 55, 671-678. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.06.053>

Moraes-Valenti, PMC, Valenti, WC, 2010. Culture of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. In: New, M.B., Valenti, W.C., Tidwell, J.H., D'Abramo, L.R., Kutt, M.N. (eds.), *Freshwater Prawns: Biology and Farming*. Wiley-Blackwell, Oxford, pp. 485-501. <https://doi.org/10.1002/9781444314649.ch22>.

Narchi, W. *Crustáceos*. Editora Polígono. EDUSP. São Paulo, p. 116, 1973.

Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M., Clay, J., ... & Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405(6790), 1017-1024.

Ninawe, A. S., & Selvin, J. (2009). Probiotics in shrimp aquaculture: avenues and challenges. *Critical reviews in microbiology*, 35(1), 43-66. <https://doi.org/10.1080/10408410802667202>

Olmos, J, Ochoa, L, Paniagua-Michel, J, & Contreras, R (2011). Functional feed assessment on *Litopenaeus vannamei* using 100% fish meal replacement by soybean meal, high levels of complex carbohydrates and *Bacillus* probiotic strains. *Marine drugs*, 9(6), 1119-1132. <https://doi.org/10.3390/md9061119>.

Otoshi, C. A., Rodriguez, N., & Moss, S. M. (2011). Establishing nitrifying bacteria in super-intensive biofloc shrimp production. *Glob. Aquacult. Advocate*, 14(4), 24-26.

Peig, J., & Green, A. J. (2009). New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos*, 118(12), 1883-1891. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17643.x>.

Pinoargote, G., Flores, G., Cooper, K., & Ravishankar, S. (2018). Effects on survival and bacterial community composition of the aquaculture water and gastrointestinal tract of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) exposed to probiotic

treatments after an induced infection of acute hepatopancreatic necrosis disease. *Aquaculture Research*, 49(10), 3270-3288. <https://doi.org/10.1111/are.13791>.

Randall, D. J., & Tsui, T. K. N. (2002). Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin. Pergamon*, 17-23.

Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L., & Leffler, J. W. (2010). Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture*, 299(1-4), 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.021>.

Ray, AJ, & Lotz, JM (2014). Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. *Aquacultural Engineering*, 63, 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.10.001>.

Reddy, M. S., & Naik, M. K. (2020). Growth performance of *Litopenaeus vannamei* in the presence and absence of probiotics with Bioflocs of different carbon sources. *environment*, 12, 13.

Richards, F. A., Cline, J. D., Broenkow, W. W., & Atkinson, L. P. (1965). SOME CONSEQUENCES OF THE DECOMPOSITION OF ORGANIC MATTER IN LAKE NITINAT, AN ANOXIC FJORD 1. *Limnology and Oceanography*, 10(suppl), R185-R201. <https://doi.org/10.4319/lo.1965.10.suppl2.r185>.

Samocha, TM, Patnaik, S, Speed, M, Ali, AM, Burger, JM, Almeida, RV, & Brock, DL. (2007). Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*, 36(2), 184-191. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2006.10.004>.

Schveitzer, R., Arantes, R., Costódio, P. F. S., do Espírito Santo, C. M., Arana, L. V., Seiffert, W. Q., & Andreatta, E. R. (2013). Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei*

in a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering*, 56, 59-70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.04.006>.

Senok, A. C., Ismaeel, A. Y., & Botta, G. A. (2005). Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(12), 958-966. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01228.x>.

Tavares, M. (2003). Espécies exóticas aquáticas e saúde ambiental. *Mundo saúde (Impr.)*, 530-537.

Timmons, M. B., Ebeling, J. M., Wheaton, F. W., Summerfelt, S. T., & Vinci, B. J. (2002). Recirculating aquaculture systems. Cayuga Aqua Ventures Inc. 2th. Edition. USA.

Tseng, I. T., & Chen, J. C. (2004). The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under nitrite stress. *Fish & Shellfish Immunology*, 17(4), 325-333. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.04.010>.

Van Wyk, P., Davis-Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K. L., Mountain, J., & Scarpa, J. (1999). *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems* (Vol. 7, pp. 125-140). Ft. Pierce, FL: Harbor Branch Oceanographic Institution.

Van Wyk, P., Davis-Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K. L., Mountain, J., & Scarpa, J. (1999). *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems* (Vol. 7, pp. 125-140). Ft. Pierce, FL: Harbor Branch Oceanographic Institution.

Vieira, FDN, Pedrotti, FS, Buglione Neto, CC, Mouriño, JLP, Beltrame, E., Martins, ML, ... & Arana, LAV (2007). Bactérias lácticas aumentam a sobrevivência de camarões marinhos, *Litopenaeus vannamei*, após infecção por *Vibrio harveyi*. *Jornal Brasileiro de Oceanografia*, 55, 251-255.

Vieira, FDN., Jatobá, A., Mouriño, JLP., Buglione Neto, CC., Silva, JSD., Seiffert, WQ, & Vinatea, LA (2016). Use of probiotic-supplemented diet on a Pacific white shrimp farm. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(5), 203-207. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000500001>.

Wang, L. U., & Chen, J. C. (2005). The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels. *Fish & Shellfish Immunology*, 18(4), 269-278. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.07.008>.

Widanarni, W, Yuhana, M, V Muhammad, A (2016). Bacillus NP5 improves growth performance and resistance against infectious myonecrosis virus in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences*. 19(4), 211-218. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.19.4.211-218>.

Williams, N. T. (2010). Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 67(6), 449-458. <https://doi.org/10.2146/ajhp090168>.

Xue, M., Liang, H., He, Y., & Wen, C. (2016). Characterization and in-vivo evaluation of potential probiotics of the bacterial flora within the water column of a healthy shrimp larviculture system. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 34(3), 484-491.

Xia, Z., & Wu, S. (2018). Effects of glutathione on the survival, growth performance and non-specific immunity of white shrimps (*Litopenaeus vannamei*). *Fish & shellfish immunology*, 73, 141-144. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.015>.

Zar, JH. (2010). **Biostatistical analysis**. (5th ed.). New Jersey: Pearson Prentice Hall.