

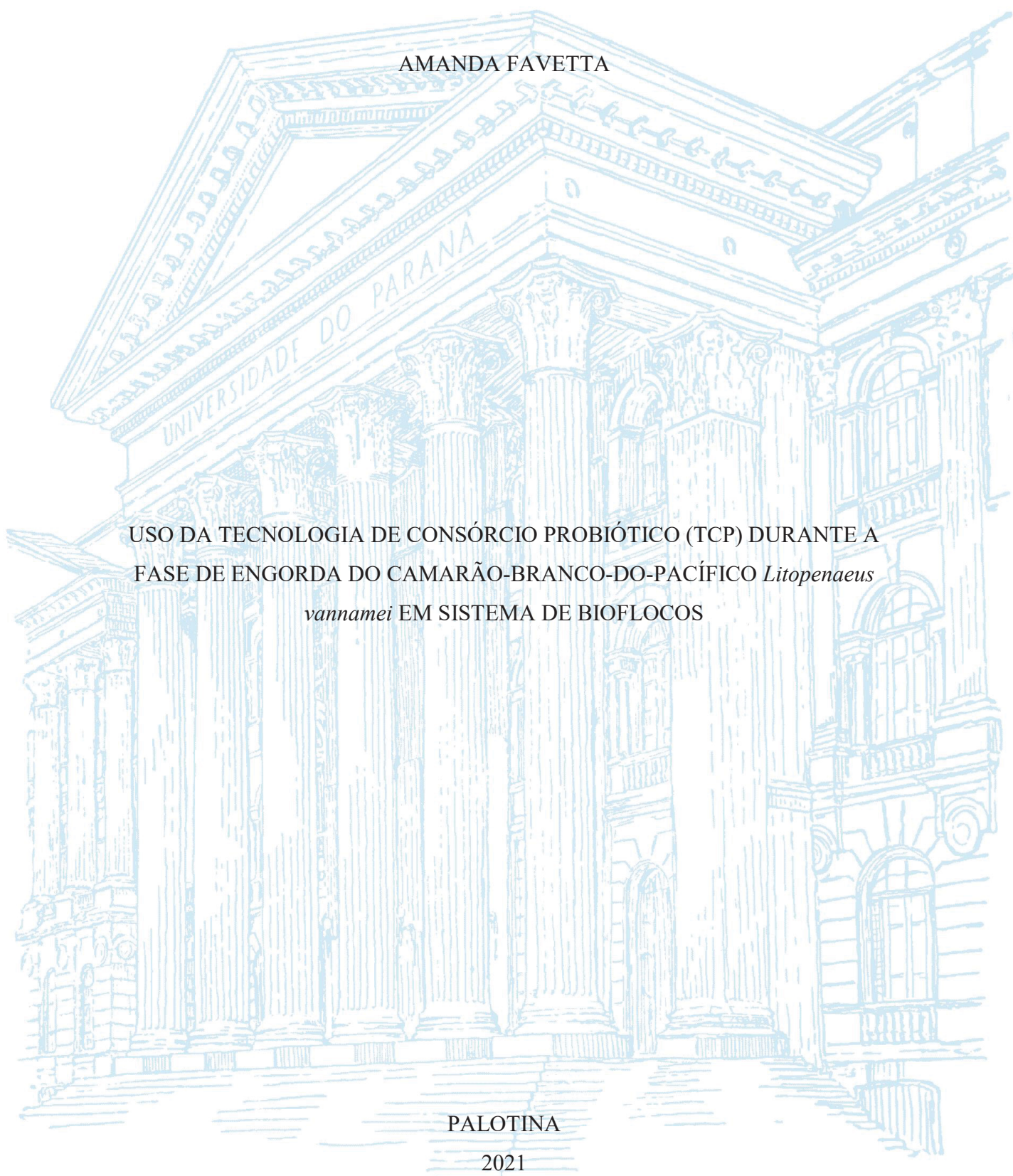
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

AMANDA FAVETTA

USO DA TECNOLOGIA DE CONSÓRCIO PROBIÓTICO (TCP) DURANTE A
FASE DE ENGORDA DO CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO *Litopenaeus*
vannamei EM SISTEMA DE BIOFLOCOS

PALOTINA

2021



AMANDA FAVETTA

USO DA TECNOLOGIA DE CONSÓRCIO PROBIÓTICO (TCP) DURANTE A
FASE DE ENGORDA DO CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO *Litopenaeus*
vannamei EM SISTEMA DE BIOFLOCOS

Artigo 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

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

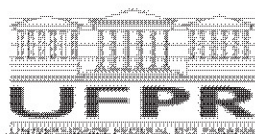
F273 Favetta, Amanda
 Uso da tecnologia de consórcio probiótico (TCP) durante a fase de engorda do Camarão-Branco-do-Pacífico *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos / Amanda Favetta – Palotina, 2021.
 28f.

 Orientador: Eduardo Luís Cupertino Ballester
 Coorientador: Fabrício Martins Dutra
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável.

 1. Carcinicultura. 2. Sistema intensivo. 3. Aquicultura. 4. Atividade enzimática. 5. Desempenho zootécnico. I. Ballester, Eduardo Luís Cupertino. II. Dutra, Fabrício Martins. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

 CDU 639.5

Ficha catalográfica elaborada por Liliane Cristina Soares Sousa – CRB 9/1736



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AQUICULTURA E
DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL - 40001010070P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de AMANDA FAVETTA intitulada: *Uso da tecnologia de consórcio probiótico (TCP) durante a fase de engorda do camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos, sob orientação do Prof. Dr. EDUARDO LUIS CUPERTINO BALLESTER, que após terem inquirido a autora 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, 13 de Agosto de 2021.

Assinatura Eletrônica

16/08/2021 18:14:55.0

EDUARDO LUIS CUPERTINO BALLESTER

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

16/08/2021 17:28:56.0

LILIAN CAROLINA ROSA DA SILVA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

16/08/2021 18:53:35.0

IZABEL VOLKWEIS ZADNELO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - CAMPUS
PALOTINA)

Assinatura Eletrônica

25/08/2021 15:02:28.0

GIOVANNI LEMOS DE MELLO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA
CATARINA)

Rua Floriano 2153 - PALOTINA - Paraná - Brasil

CEP 85950-000 - Tel: (41) 3211-8329 - E-mail: pgads@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Cerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 107002

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 107002

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do probiótico Bio 02 Camarão[®], com Tecnologia do Consórcio Probiótico - TCP, sobre o desempenho de juvenis de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos – BFT. O experimento contou com quatro tratamentos e quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais de 220 L, nas quais foram estocados, 35 animais ($3,15 \pm 0,53$ g e $7,80 \pm 0,54$ cm) em sistema de bioflocos (160 camarões/m³). Os tratamentos foram - T1: controle sem probiótico; T2: probiótico na dieta (3mL kg^{-1}) e água ($0,5\text{ppm} - 3$ vezes por semana); T3: probiótico na dieta (3mL kg^{-1}) e água ($1\text{ppm} -$ diariamente), e T4: probiótico na água ($1\text{ppm} -$ diariamente). Avaliou-se a qualidade de água, concentração de unidades formadoras de colônia (UFC) de *Vibrio* spp. na água e hepatopâncreas, desempenho zootécnico e atividade enzimática digestiva dos camarões. Para qualidade de água e *Vibrio*, não foram observadas diferenças entre os tratamentos, entretanto foram observadas diferenças para cada tratamento ao longo do tempo. Quanto ao desempenho zootécnico, os tratamentos com uso de probiótico promoveram maior biomassa final (BF), ganho de biomassa (GB) e taxa de conversão alimentar (CAA) mais eficiente ($p < 0,05$). A melhora no desempenho promovida pelo probiótico, pode ser relacionada a um aumento nas concentrações de amilases, quimotripsina e lipases no hepatopâncreas ($p < 0,05$), importantes enzimas digestivas, sugerindo que houve maior eficiência no aproveitamento da dieta. Concluiu-se que o tratamento 3 promoveu o melhor desempenho zootécnico de *L. vannamei* na fase inicial de engorda em sistema de bioflocos.

Palavras-chave: Carcinicultura, Sistema intensivo, Aquicultura, Atividade enzimática; Desempenho zootécnico.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of the probiotic Bio O₂ Camarão®, with Probiotic Consortium Technology - TCP, on the performance of juveniles of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc system - BFT. The experiment had four treatments and four replications, totaling 16 experimental units of 220 L, in which 35 animals ($3.15 \pm 0.53\text{g}$ and $7.80 \pm 0.54\text{cm}$) were stored in a biofloc system (160 shrimp / m³). The treatments were - T1: control without a probiotic; T2: probiotic added to diet (3mL kg^{-1}) and in water (0.5ppm - three times a week); T3: probiotic added to diet (3mL kg^{-1}) and in water (1ppm - daily), and T4: probiotic added to water (1ppm - daily). Water quality, concentration of colony forming units (CFU) of *Vibrio* spp. in water and hepatopancreas, zootechnical performance and digestive enzyme activity of shrimp. For water quality and *Vibrio*, no differences were observed between treatments, however differences were observed for each treatment over the time. As for zootechnical performance, treatments with the use of probiotics promoted higher final biomass (FB), biomass gain (BG) and more efficient feed conversion ratio (FCR) ($p < 0.05$). The improvement in performance promoted by the probiotic can be related to an increase in concentrations of amylases, chymotrypsin and lipases in hepatopancreas ($p < 0.05$), important digestive enzymes, suggesting that there was greater efficiency in the use of the diet. It was concluded that treatment 3 promoted the best zootechnical performance of *L. vannamei* in the initial phase of growth in a biofloc system.

Key-words: Shrimp farming, Intensive system, Aquaculture, Enzymatic activity; Zootechnical performance.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	METODOLOGIA	8
2.1	DESENHO EXPERIMENTAL	9
2.2	ALIMENTAÇÃO	10
2.3	QUALIDADE DE ÁGUA	10
2.4	MONITORAMENTO DE VIBRIO	11
2.5	DESEMPENHO ZOOTÉCNICO	11
2.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA	13
2.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	14
3	RESULTADOS	14
3.1	QUALIDADE DE ÁGUA	14
3.2	MONITORAMENTO DE VIBRIO	19
3.3	DESEMPENHO ZOOTÉCNICO	21
3.4	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA	22
4	DISCUSSÃO	23
5	CONCLUSÃO	26
	REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

O camarão-branco-do-pacífico, *Litopenaeus vannamei*, é o crustáceo mais produzido no mundo, representando 52,9% da produção (FAO, 2020). Nas últimas duas décadas, o aumento da demanda por alimento, a crescente escassez de água e a preocupação com o meio ambiente, tem levado a produção de camarão a se intensificar (ZHANG et al., 2017; KUMAR et al., 2020; XU et al., 2021).

Devido a sua adaptabilidade e desempenho zootécnico, *L. vannamei* tem obtido sucesso em sistemas intensivos de bioflocos, que permitem altas densidades de estocagem com bons resultados produtivos (KRUMMENAUER et al., 2011; DA SILVEIRA et al., 2020). A tecnologia do bioflocos (Biofloc technology - BFT) é uma alternativa para a produção de camarão, e em regiões distantes do mar, com o uso de água salinizada artificialmente, o principal benefício nesse sentido é a mínima ou zero troca de água (EMERENCIANO et al., 2017). Trata-se de um sistema onde é estimulada a formação de agregados ou flocos contendo principalmente bactérias heterotróficas e quimioautotróficas, microalgas além de outros organismos que transformam o excesso de nutrientes da água em biomassa, fazendo assim a ciclagem de nutrientes e podendo servir de alimento para o organismo produzido (EMERENCIANO et al., 2017; DE ALMEIDA et al., 2021). O sistema depende de aeração intensa e constante para oxigenação e movimentação da água (DE SCHRYVER et al., 2008), e adição de uma fonte de carbono para formação de biomassa dos microrganismos (SERRA et al., 2015). Esses microrganismos também podem auxiliar na resistência contra patógenos por meio de exclusão competitiva dos organismos nocivos, ou fortalecendo o sistema imunológico dos crustáceos (AALIMAHMOUDI; AZARM; MOHAMADI, 2017; EMERENCIANO et al., 2017).

Em sistemas BFT, quanto maior a densidade de estocagem, mais delicado e complexo é manter o equilíbrio das condições ótimas da água (DA SILVEIRA et al., 2020). Uma das maiores preocupações em sistemas de produção intensivos é o controle de agentes patogênicos (AALIMAHMOUDI; AZARM; MOHAMADI, 2017). Dentre eles, espécies de bactérias do gênero *Vibrio*, podem apresentar resistência a certos antibióticos (WANG et al., 2015), podendo afetar drasticamente o crescimento e sobrevivência dos camarões, sendo assim é importante monitorar o desenvolvimento desse gênero de bactérias no sistema produtivo (SOMBOON et al., 2012; TRAN et al., 2013; WANG et al., 2015; RESTREPO et al., 2016; KE et al., 2017; LIU et al., 2018; SU et al., 2018).

Dentro deste contexto, a utilização de probióticos tem sido avaliada para este tipo de sistema (TAMILARASU et al., 2020; JIMÉNEZ-ORDAZ et al., 2021). Os probióticos foram definidos por AFRC (1989) como suplementos alimentares microbianos benéficos para os hospedeiros. São comumente utilizados na dieta ou na água para estimular a formação dos flocos e auxiliar na estabilização da qualidade de água e comunidade microbiana, incluindo resistência a *Vibrio*, (FERREIRA et al., 2017). Também é possível identificar benefícios à morfologia do trato digestivo, composição da microbiota intestinal (FAN; LI, 2019; MUNAENI et al., 2020), resposta imune (ROOMIANI; AHMADI; GHAENI, 2018; KEWCHAROEN; SRISAPOOME, 2019; LLARIO et al., 2019), atividade enzimática digestiva, e desempenho zootécnico de *L. vannamei* (AMOAHA et al., 2019).

A atividade enzimática (síntese, secreção e regulação) define a capacidade digestiva de *L. vannamei* (CARRILLO-FARNÉS et al., 2007) e melhor eficiência na absorção de nutrientes, o que reflete em melhoria da conversão alimentar e ganho de peso (PEIXOTO et al., 2018; ROCHA et al., 2019) devido as enzimas microbianas como as amilases, proteases e lipases quebrarem moléculas maiores e complexas (TUAN; DUC; HATAI, 2013). Assim, a utilização de probióticos como suplemento alimentar pode melhorar a atividade enzimática, além de influenciar a composição da comunidade microbiana do intestino (ADEL et al., 2017).

A Tecnologia do Consorcio Probiotico (TCP) é uma inovação que tem como base o princípio dos Microbiomas Projetados Ativos. Isso significa dizer que bactérias e leveduras, nas proporções e meios adequados, constituem um ambiente simbiótico que opera de forma a suportar e proteger ambientes produtivos. Por meio de interações desse sistema, internas e externas, são formados os pós-bióticos primários e secundários, que por sua vez possuem ações diretas no meio, como por exemplo, mineralização de matéria orgânica, disponibilização de nutrientes, ação anti-microbiana (antagonizando elementos patogênicos) entre outras. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do probiótico Bio O₂ Camarão[®], com tecnologia do consórcio probiótico - TCP, sobre a qualidade de água, controle de *Vibrio* spp., desempenho zootécnico e atividade enzimática digestiva de juvenis de *Litopenaeus vannamei*, durante a fase inicial de engorda, produzidos em sistema de bioflocos - BFT.

2 METODOLOGIA

O bioensaio foi realizado no Laboratório de Carcinicultura, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Aquicultura Sustentável, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Maripá - PR, durante 32 dias. O probiótico avaliado foi o Bio O₂ Camarão[®] da empresa Global

Saúde, composto por um mix de bactérias denominado tecnologia do consórcio probiótico – TCP, a base de bactérias ácido lácticas, leveduras, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus casei* - subespécie *rhamnosus*, *Saccharomyces cerevisiae*, e outras 13 espécies de bactérias utilizadas no processo de propagação da TCP que, mesmo em quantidades menores, são fundamentais para a estabilização do sistema, por meio da produção de ácidos, açúcares e metabólitos em geral (a composição exata é mantida em sigilo pela empresa).

2.1 DESENHO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições (TABELA 1), totalizando 16 unidades experimentais (UEs). Foram estocados 35 camarões por UE (densidade de estocagem de 160 camarões/m³) com peso médio de 3,15 ± 0,53g e comprimento total médio de 7,80 ± 0,54cm, provenientes da linhagem SpeedLine[®] da empresa Aquatec[®]. O meio de produção (bioflocos) e os animais foram obtidos de um produtor local. O biofoco, sem adição de probiótico, havia passado por processo de desnitrificação para reutilização da água e estava em desenvolvimento para início de um ciclo comercial de engorda de *L. vannamei*. Os tratamentos foram definidos considerando avaliar a eficiência e o custo de aplicação do produto e estão descritos na tabela 1.

TABELA 1. DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS QUANTO A DOSAGEM E FREQUÊNCIA DE ADMINISTRAÇÃO NA ÁGUA E INCLUSÃO NA ALIMENTAÇÃO.

Tratamento	Probiótico na água		Probiótico na alimentação
	Dose	Frequência	
T1 (controle)	Sem probiótico	-	Sem probiótico
T2	50mL / 100.000 L (0,5ppm*)	3 aplicações / semana	3mL kg ⁻¹ de ração
T3	100mL / 100.000 L (1ppm)	7 aplicações / semana	3mL kg ⁻¹ de ração
T4	100mL / 100.000 L (1ppm)	7 aplicações / semana	Sem probiótico

FONTE: O autor (2021).

NOTAS: * ppm: partes por milhão.

Os camarões foram estocados em tanques circulares de polietileno com 220L de volume útil, dispostos em uma estufa, em sistema estático com aeração forçada. Durante a semana que antecedeu o início do experimento foram adicionados diariamente 10g de fonte de carbono (açúcar mascavo) em cada unidade experimental, para estimular e manter a formação dos flocos. Quatro vezes ao dia foi realizado o revolvimento do fundo dos tanques para evitar o acúmulo excessivo de sedimentos e consequente surgimento de áreas anóxicas. As unidades foram cobertas com tela sombrite para evitar a fuga dos animais.

2.2 ALIMENTAÇÃO

Na primeira semana foram ofertadas as rações comerciais Guabitech Inicial J[®] (40% proteína bruta) e Guabitech Active[®] 1,6mm (36% proteína bruta) em uma proporção de 3:7, respectivamente. Posteriormente foi ofertada apenas Guabitech Active[®]. Para o preparo das rações, semanalmente, foram homogeneizados 3mL kg⁻¹ (3mL de probiótico diluído em 100mL de água destilada borrifados em 1kg de ração) e secos em estufa sem circulação de ar (aproximadamente 35°C) por aproximadamente 3 horas, realizando o revolvimento da ração a cada 30 minutos para secagem uniforme. As rações sem probiótico passaram pelo mesmo processo, no qual foi borrifado o mesmo volume de água destilada.

Cada unidade experimental recebeu 7,5g de ração por dia, fracionada em cinco alimentações (8:30, 11:00, 14:00, 17:00 e 01:00h). A taxa de arraçoamento foi calculada projetando um crescimento de 1g por semana e conversão alimentar de 1,5:1, fornecendo a mesma quantidade durante toda a duração do experimento.

2.3 QUALIDADE DE ÁGUA

Diariamente foram monitorados temperatura (manhã e tarde) e oxigênio dissolvido (manhã) com auxílio de um oxímetro Hanna[®] – HI9146. A cada quatro dias foram aferidos os valores de pH pelo Medidor de pH Luca-210[®] e salinidade (refratômetro manual - Atago[®]). Semanalmente foram aferidos dureza total (pages 2-37; titrimetric method) e alcalinidade total (pages 2-27; titrimetric method) (APHA, 2005).

O volume dos sólidos sedimentáveis (SS) foi quantificado conforme Avnimelech (2009) a cada cinco dias. Para obtenção dos sólidos suspensos totais (SST), amônia total (pages 4-114; phenate methods) e nitrito (pages 4-118; Griess reaction) foi aplicada a metodologia descrita em APHA (2005) ao 1^o, 15^o e 31^o dia de experimento.

2.4 MONITORAMENTO DE VIBRIO

Foi realizada a contagem estimativa de unidades formadoras de colônia (UFCs) de *Vibrio* em amostras de água e hepatopâncreas. O plaqueamento e contagem de UFC foi realizado no Núcleo Experimental de Micologia Aplicada (NEMA), Universidade Federal do Paraná, Palotina.

Amostras de água de todas as unidades experimentais foram coletadas e enviadas imediatamente para realizar o plaqueamento, no 1^o, 15^o e 31^o dia de experimento. Foram preparadas duas diluições, 1×10^{-1} e 1×10^{-2} (amostra / solução salina 0,85%), de cada amostra, obtidas por meio de diluição seriada. Foram adicionados 100µl de cada diluição em placas de Petri contendo meio de cultura TCBS (ágar de tiosulfato, citrato, biliar e sacarose). As placas foram incubadas em estufa a 37°C *overnight* (18 horas), após o período de incubação foi realizada a contagem das UFCs.

Ao final do experimento foram coletados, aleatoriamente, os hepatopâncreas de 10 animais (n = 10) de cada UE. Os hepatopâncreas foram armazenados em microtubos tipo de 1,5mL e enviados imediatamente para o NEMA. Os órgãos foram pesados e homogeneizados em agitador vortex com adição de solução salina a 0,85% (quantidade de solução correspondente ao peso de cada órgão de forma a obter diluição 1×10^{-1} amostra / solução salina). O procedimento de plaqueamento, incubação e contagem de UFCs foi o mesmo utilizado para as amostras de água.

2.5 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

Ao final do experimento todos os animais foram contabilizados, pesados (balança analítica digital Marte-AY220[®], precisão 0,0001g) e medidos (comprimento total – paquímetro ZAZ[®]) para determinar peso médio final, comprimento médio final, ganho de peso, sobrevivência, biomassa final, ganho de biomassa, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento relativo peso, taxa de crescimento relativo comprimento, taxa de crescimento específico peso, taxa de crescimento específico comprimento. Os cálculos utilizados para obtenção desses valores são apresentados a seguir:

2.5.1 Peso médio final (PF):

$$PF = \text{Somatória dos pesos individuais} \div \text{Número total de indivíduos}$$

2.5.2 Ganho de peso (GP):

$$GP = \text{peso médio final} - \text{peso médio inicial}$$

2.5.3 Sobrevivência (S):

$$S (\%) = \frac{\text{Número final de camarões}}{\text{Número inicial de camarões}} \times 100$$

2.5.4 Biomassa final (BF):

$$BF = \text{Número final de camarões} \times \text{Peso médio dos camarões}$$

2.5.5 Ganho de biomassa (GB):

$$GB = \text{Biomassa final} - \text{Biomassa inicial}$$

2.5.6 Conversão alimentar aparente (CAA):

$$CAA = \frac{\text{Quantidade total de ração fornecida}}{\text{Biomassa total produzida}}$$

2.5.7 Taxa de crescimento relativo peso / comprimento (TCRP% e TCRC%)

(STEFFENS, 1989):

$$TCRP = \frac{GB \text{ (g)}}{Biomassa \text{ inicial (g)} \times \text{Período(dias)}} \times 100$$

$$TCRC = \frac{\text{Comprimento médio final (cm)} - \text{Compr. médio inicial(cm)}}{\text{Comprimento médio inicial (cm)} \times \text{Período(dias)}} \times 100$$

2.5.8 Taxa de crescimento específico peso / comprimento (TCEP% e TCEC%)

(BAUTISTA-TERUEL; EUSEBIO; WELSH, 2003):

$$TCEP \text{ (\%)} = \frac{100 \times [\ln Biomassa \text{ final (g)} - \ln Biomassa \text{ inicial (g)}]}{\text{Período (dias)}}$$

$$TCEC \text{ (\%)} = \frac{100 \times [\ln Comp. \text{ médio final (cm)} - \ln Comp. \text{ médio inicial (cm)}]}{\text{Período (dias)}}$$

2.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Ao final do experimento foram coletados, aleatoriamente, os hepatopâncreas de 10 animais (n=10) por UE para avaliação da atividade enzimática digestiva. Os hepatopâncreas foram colocados separadamente em microtubos de 1,5ml e armazenados em nitrogênio líquido. As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Genética na Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul-PR.

Para análise, os hepatopâncreas foram homogeneizados em solução salina 8% com auxílio de homogeneizador elétrico (IKA® T10 basic), e logo após, centrifugados em centrífuga refrigerada (Sigma, 3-16 KL) a 4 °C por 10 minutos a 12000rpm. O sobrenadante, obtido após a centrifugação, foi retirado e utilizado para as determinações. Foram determinados os teores de proteína (BRADFORD, 1976), amilase e lipase (SEIXAS-FILHO, 2003), tripsina e quimotripsina (HUMMEL, 1959) e triacilgliceróis (kit comercial, seguindo as recomendações do fabricante, Gold Analisa®).

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as variáveis passaram pela verificação de pressupostos de normalidade e homocedasticidade. Os valores de temperatura, oxigênio dissolvido, pH, salinidade, dureza total, alcalinidade total, análises de atividade enzimática, desempenho zootécnico e UFC de *Vibrio* em hepatopâncreas foram submetidos a análise de variância (Anova) uma via. Os valores de SST, SS, amônia, nitrito e UFC de *Vibrio* em água, foram submetidos a Anova duas vias. Os valores de SS por foram submetidos a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis devido a não atenderem os pressupostos de normalidade e homogeneidade.

Os dados de UFC de *Vibrio* em água e atividade de lipase passaram por transformação logarítmica ($\log x$), a fim de atender os pressupostos. Quando detectadas diferenças, os dados foram submetidos ao teste de comparação de médias de Tukey.

Para todos os testes estatísticos foi adotado $\alpha = 5\%$.

3 RESULTADOS

3.1 QUALIDADE DE ÁGUA

Durante o período experimental não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis de qualidade de água sumarizadas na tabela 2 ($p > 0,05$).

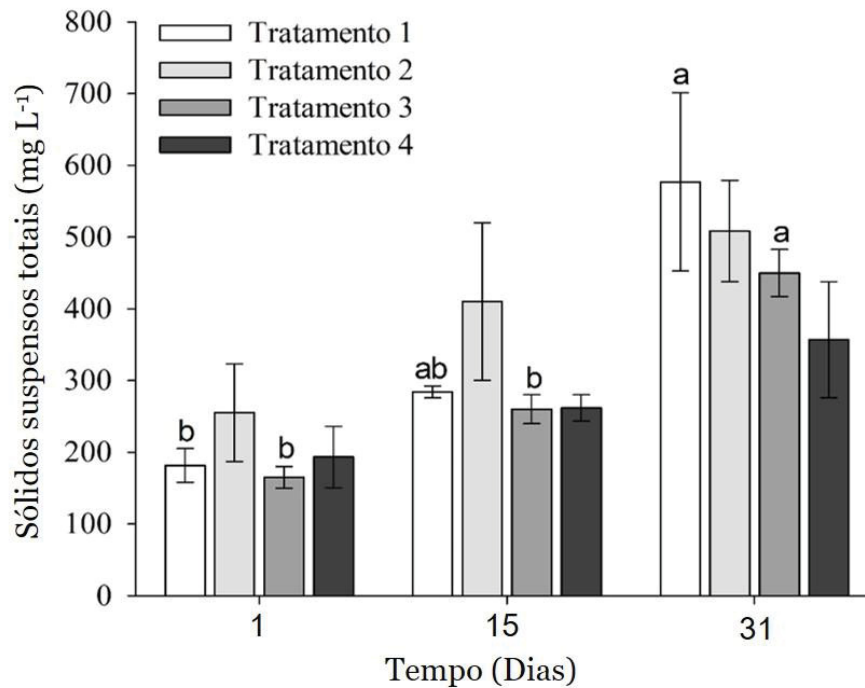
TABELA 2: VALORES MÉDIOS (\pm D.P.) DAS VARIÁVEIS DE QUALIDADE DE ÁGUA DURANTE A PRODUÇÃO DE *L. vannamei* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS COM ADMINISTRAÇÃO DE PROBIÓTICO ($\alpha = 5\%$).

Variáveis	T1	T2	T3	T4	Valores recomendados*
Temperatura (°C)	27,30 \pm 0,48	27,00 \pm 0,34	27,00 \pm 0,50	27,10 \pm 0,34	28,00-32,00
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	4,96 \pm 0,07	4,94 \pm 0,01	4,94 \pm 0,08	5,01 \pm 0,05	5,00 – 9,00
pH	9,04 \pm 0,04	9,05 \pm 0,01	9,03 \pm 0,05	9,03 \pm 0,03	7,00 – 8,30
Salinidade (mg L ⁻¹)	26,57 \pm 0,41	26,64 \pm 0,45	26,23 \pm 0,33	26,26 \pm 0,59	0,50-35,00
Dureza Total (mg L ⁻¹ de CaCO ₃)	814,33 \pm 136,60	953,33 \pm 111,47	925,00 \pm 133,70	716,67 \pm 377,10	>100,00
Alcalinidade Total (mg L ⁻¹ de CaCO ₃)	132,88 \pm 50,53	134,41 \pm 47,62	138,29 \pm 41,39	134,80 \pm 42,26	>100,00

FONTE: O autor (2021).

NOTAS: *Valores de qualidade de água recomendados para *L. vannamei* (Van Wyk et al., 1999; Rajkumar et al., 2016; Kumar et al., 2018). Não foram detectadas diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p > 0,05$).

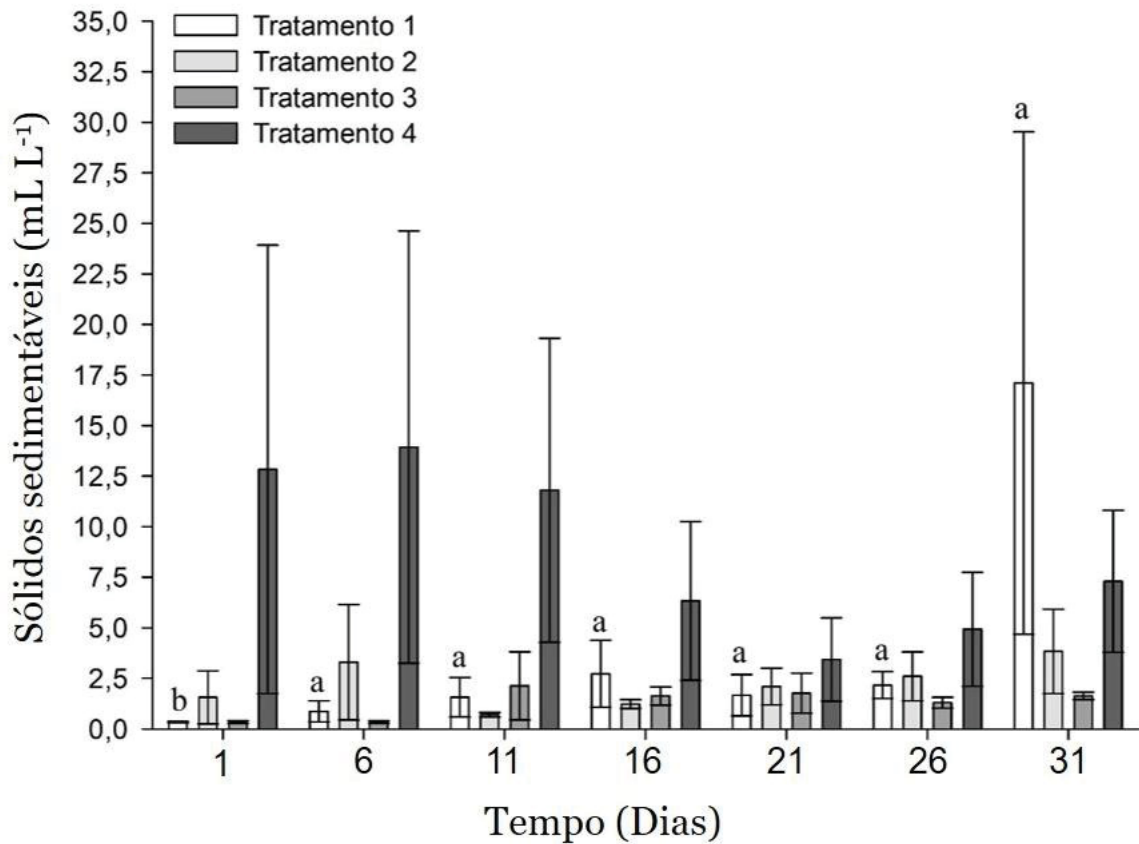
FIGURA 1: MÉDIA (\pm E.P.) DE CONCENTRAÇÃO DOS SÓLIDOS SUSPENSOS TOTAIS AO LONGO DO EXPERIMENTO. LETRAS DIFERENTES INDICAM DIFERENÇA SIGNIFICATIVA DENTRO DE CADA TRATAMENTO AO LONGO DO PERÍODO EXPERIMENTAL ($\alpha = 5\%$).



FONTE: O AUTOR (2021).

A concentração de SST foi diferente quando considerado cada tratamento ao longo do tempo ($p < 0,05$). É possível observar que entre as coletas ocorreu um aumento nas concentrações em T1 e T3 (FIGURA 1), e na última semana de produção foi o período com maior concentração de SST (T1: $576,7\text{mg L}^{-1}$ e T3: $450,0\text{mg L}^{-1}$). Não foram identificadas diferenças para T2 e T4 ao longo do período experimental. Dentro da mesma coleta não foram observadas diferença entre os tratamentos (FIGURA 1; $p > 0,05$).

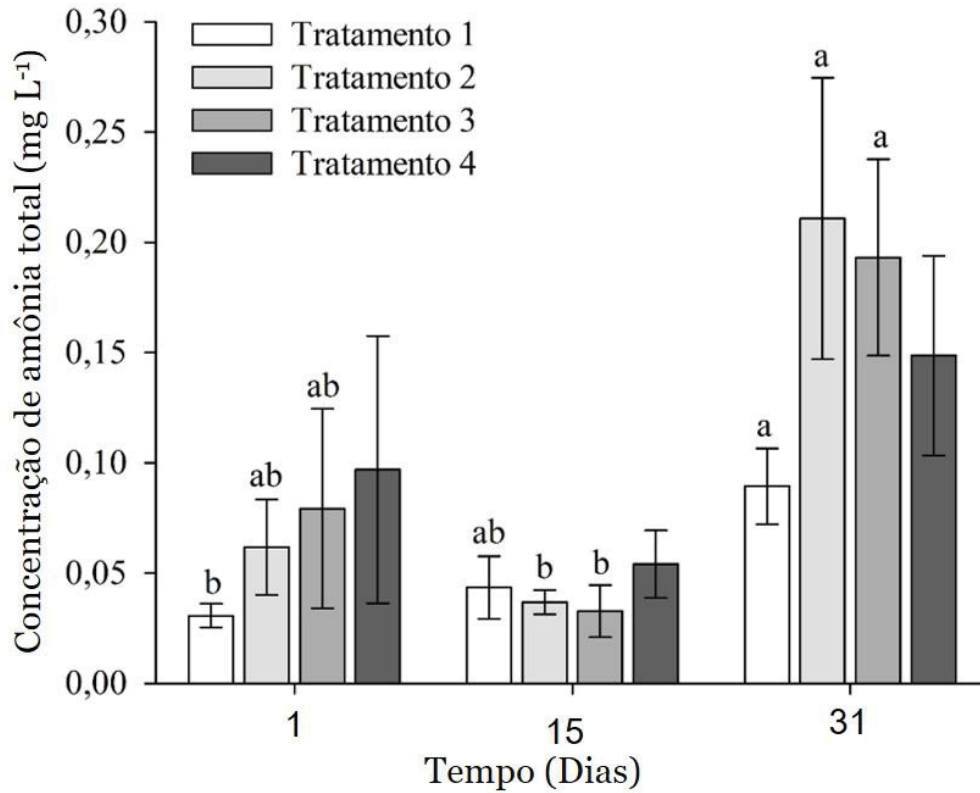
FIGURA 2: MÉDIA (\pm E.P.) DE CONCENTRAÇÃO DOS SÓLIDOS SUSPENSOS SEDIMENTÁREIS AO LONGO DO EXPERIMENTO. LETRAS DIFERENTES INDICAM DIFERENÇA SIGNIFICATIVA DENTRO DE CADA TRATAMENTO AO LONGO DO PERÍODO EXPERIMENTAL ($\alpha = 5\%$).



FONTE: O AUTOR (2021).

Na figura 2 são apresentados os valores de SS. A comparação entre os tratamentos dentro de cada coleta não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$). Considerando cada tratamento ao longo do tempo, foram observadas diferenças para T1 entre a primeira (média $0,3\text{mL L}^{-1}$) e as demais coletas (médias $0,725$; $1,225$; $2,55$; $1,4$; $1,875$; $13,225\text{mL L}^{-1}$ respectivamente) ($p < 0,05$).

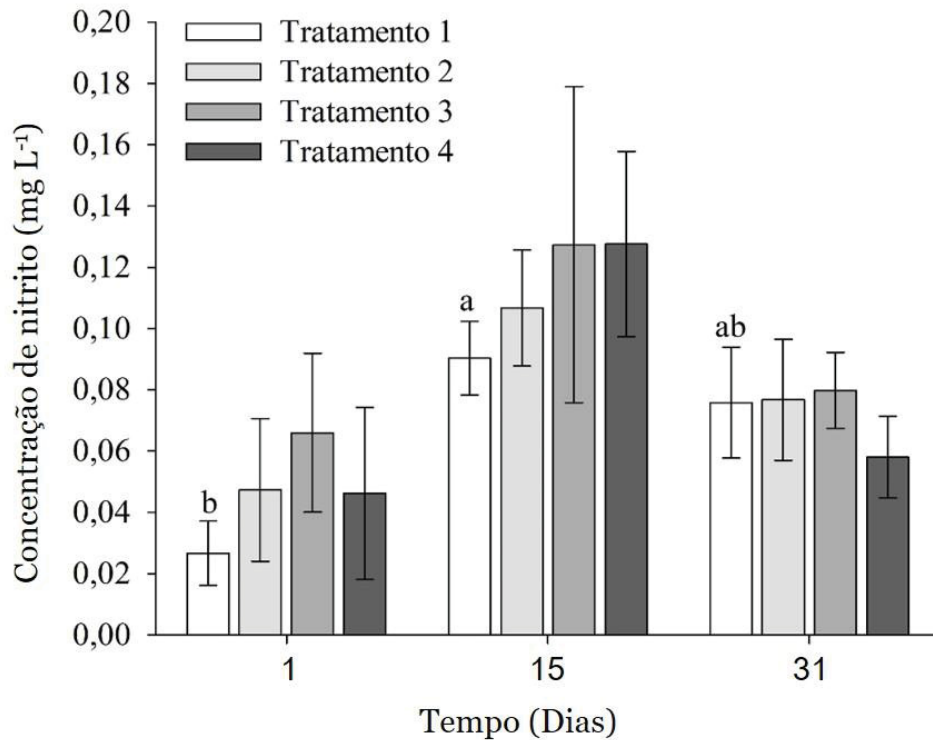
FIGURA 3: MÉDIA (\pm E.P.) DAS CONCENTRAÇÕES DE AMÔNIA TOTAL AO LONGO DO EXPERIMENTO. LETRAS DIFERENTES INDICAM DIFERENÇA SIGNIFICATIVA DENTRO DE CADA TRATAMENTO AO LONGO DO PERÍODO EXPERIMENTAL ($\alpha = 5\%$).



FONTE: O autor (2021).

Na figura 3 são apresentados os valores de amônia total monitorados durante o experimento. As concentrações de amônia total apresentaram diferenças significativas considerando cada tratamento ao longo do tempo ($p < 0,05$). Os tratamentos T1, T2 e T3 apresentaram queda, seguida de aumento na concentração de amônia ao decorrer do experimento, apresentando na última semana a maior concentração de amônia total (T1: $0,0894 \text{ mg L}^{-1}$; T2: $0,2108 \text{ mg L}^{-1}$ e T3: $0,1931 \text{ mg L}^{-1}$). Já no tratamento T4 as concentrações de amônia total não apresentaram diferenças ao longo do tempo ($p > 0,05$). Quando comparados os tratamentos na mesma coleta não foram observadas diferenças ($p > 0,05$).

FIGURA 4: MÉDIA (\pm E.P.) DAS CONCENTRAÇÕES DE NITRITO AO LONGO DO EXPERIMENTO. LETRAS DIFERENTES INDICAM DIFERENÇA SIGNIFICATIVA DENTRO DE CADA TRATAMENTO AO LONGO DO PERÍODO EXPERIMENTAL ($\alpha = 5\%$)

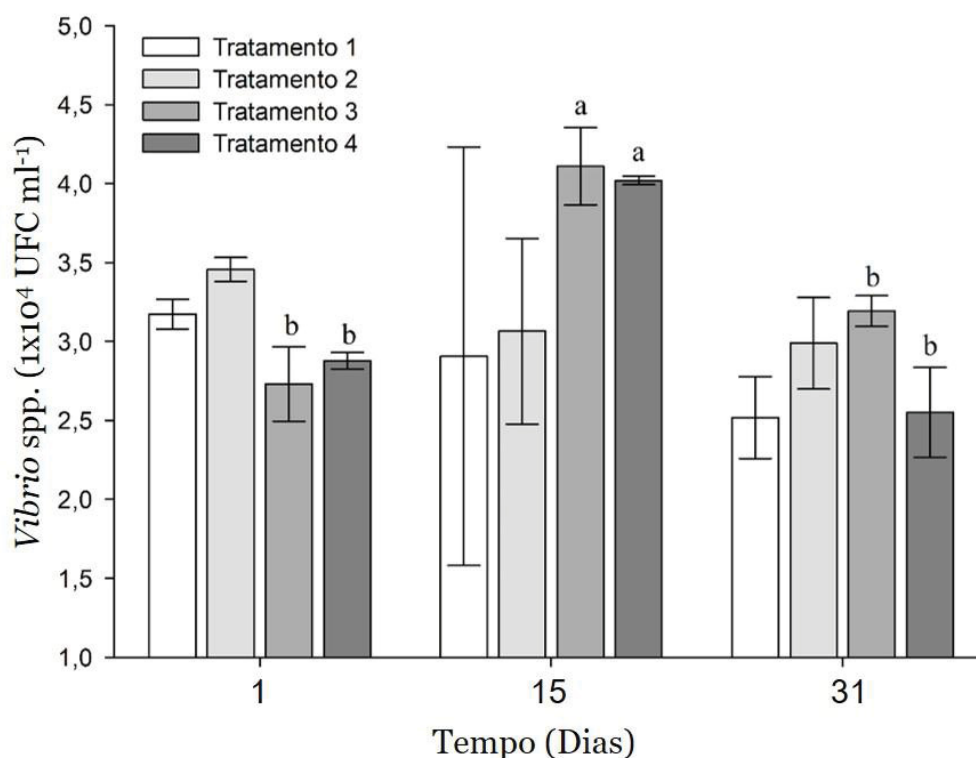


FONTE: O autor (2021).

Quando comparado cada tratamento durante a mesma coleta não foram identificadas diferenças (FIGURA 4). As concentrações de nitrito em T2, T3 e T4, não apresentaram diferença significativa considerando cada tratamento ao longo do tempo ($p > 0,05$). Em T1 observou-se um aumento significativo na concentração de nitrito ($0,0903\text{mg L}^{-1}$) na metade do experimento em relação ao início, no entanto, na última semana houve uma redução na concentração desse composto ($p < 0,05$).

3.2 MONITORAMENTO DE VIBRIO

FIGURA 5: MEDIAS (\pm E.P.) DAS CONCENTRAÇÕES DE UFCs DE *Vibrio* spp. EM AMOSTRAS DE ÁGUA (LOG X). LETRAS DIFERENTES INDICAM DIFERENÇA SIGNIFICATIVA DENTRO DE CADA TRATAMENTO AO LONGO DO PERÍODO EXPERIMENTAL ($\alpha = 5\%$).



FONTE: O autor (2021).

Com relação ao *Vibrio* nas amostras de água, não houve diferença significativa para as concentrações de UFC entre os tratamentos dentro de cada coleta ($p > 0,05$). Considerando cada tratamento ao longo das coletas, foi observada diferença para T3 e T4 ($p < 0,05$), ambos apresentaram a maior quantidade de colônias na segunda coleta (FIGURA 5).

TABELA 3: VALORES MÉDIOS (\pm D.P.) DE UFC g^{-1} DE *Vibrio* spp. EM AMOSTRAS DE HEPATOPÂNCREAS DE *L. vannamei* PRODUZIDO EM BIOFLOCO COM ADMINISTRAÇÃO DE PROBIÓTICO ($\alpha = 5\%$).

Tratamentos	UFC de <i>Vibrio</i> (1×10^4 UFC g^{-1})
T1	$3,16 \pm 2,66$
T2	$3,45 \pm 3,06$
T3	$2,72 \pm 1,45$
T4	$3,53 \pm 2,89$

FONTE: O autor (2021).

Na tabela 2 são apresentadas as concentrações de UFC para *Vibrio* no hepatopâncreas dos camarões. Com relação as amostras de hepatopâncreas, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$).

3.3 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

Os valores de desempenho zootécnico estão descritos a seguir (TABELA 3).

TABELA 4: VALORES MÉDIOS (\pm D.P.) DAS VARIÁVEIS ZOOTÉCNICAS DE *L. vannamei* PRODUZIDOS EM BIOFLOCO COM ADMINISTRAÇÃO DE PROBIÓTICO ($\alpha = 5\%$).

Variáveis	T1	T2	T3	T4
PF (g)	8,15 \pm 0,32	8,10 \pm 0,11	8,67 \pm 0,35	8,16 \pm 0,57
CF (cm)	10,77 \pm 0,12	10,70 \pm 0,17	10,93 \pm 0,06	10,63 \pm 0,25
GP (g)	5,10 \pm 0,32	5,05 \pm 0,11	5,62 \pm 0,35	5,11 \pm 0,57
S (%)	84,60 \pm 4,13	92,70 \pm 3,12	90,00 \pm 9,49	94,50 \pm 9,36
BF (g)	254,94 \pm 2,81 ^b	278,02 \pm 11,49 ^{ab}	288,29 \pm 18,67 ^a	284,18 \pm 10,15 ^{ab}
GB (g)	159,37 \pm 2,95 ^b	173,31 \pm 8,19 ^a	186,63 \pm 8,09 ^a	177,43 \pm 3,47 ^a
CAA (g g)	1,41 \pm 0,03 ^a	1,30 \pm 0,06 ^{ab}	1,21 \pm 0,05 ^b	1,27 \pm 0,03 ^b
TCRP (%)	267,10 \pm 10,60	265,46 \pm 3,51	284,37 \pm 1,52	267,43 \pm 18,78
TCRC (%)	299,67 \pm 11,55	293,00 \pm 17,32	316,33 \pm 5,77	286,33 \pm 25,17
TCEP (%)	3,27 \pm 0,13	3,25 \pm 0,04	3,48 \pm 0,14	3,27 \pm 0,23
TCEC (%)	1,09 \pm 0,04	1,07 \pm 0,05	1,14 \pm 0,02	1,05 \pm 0,08

FONTE: O autor (2021).

NOTA: Letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$). Peso Final (PF); Comprimento Final (CF); Ganho de Peso (GP); Sobrevivência (S); Biomassa Final (BF); Ganho de Biomassa (GB); Taxa de Conversão Alimentar Aparente (CAA); Taxa de Crescimento Relativo Peso (TCRP); Taxa de Crescimento Relativo Comprimento (TCRC); Taxa de Crescimento Específico Peso (TCEP); Taxa de Crescimento Específico Comprimento (TCEC).

As variáveis zootécnicas PF, CF, S e GP não apresentaram diferença entre os tratamentos ($p > 0,05$). Apesar de não apresentar diferença estatística, a sobrevivência foi maior nos tratamentos com probiótico, e o tratamento T3 apresentou maiores valores de PF, GP e CF. Para TCRP, TCRC, TCEP, TCEC não foram identificadas diferenças entre os tratamentos ($p > 0,05$), mas o tratamento T3 apresentou os maiores valores percentuais.

Foram observadas diferenças entre os tratamentos para biomassa final, ganho de biomassa e conversão alimentar ($p < 0,05$). Para BF, T3 apresentou os maiores valores, já para

GB, os maiores valores foram observados em T3 e T4. Os menores valores de conversão alimentar foram observados em T3 e T4.

3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Os valores médios de tripsina, quimotripsina, amilase, lipase, proteína e triacilgliceróis em hepatopâncreas, utilizados como indicadores da atividade enzimática digestiva, são apresentados na tabela 4.

TABELA 4: VALORES MÉDIOS (\pm D.P.) DE INDICADORES DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA DIGESTIVA EM HEPATOPÂNCREAS DE *L. vannamei* PRODUZIDOS EM BIOFLOCO COM ADMINISTRAÇÃO DE PROBIÓTICO ($\alpha = 5\%$).

Tratamento	Tripsina	Quimotripsina	Proteína
	($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg prote\u00edna}^{-1}$)	($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg prote\u00edna}^{-1}$)	(mg mL^{-1})
T1	$6,16 \times 10^{-3} \pm 1,56 \times 10^{-3}$	$0,676 \pm 0,057^b$	$5,37 \pm 0,46^{ab}$
T2	$6,93 \times 10^{-3} \pm 1,38 \times 10^{-3}$	$0,651 \pm 0,032^b$	$5,45 \pm 0,38^{bc}$
T3	$7,08 \times 10^{-3} \pm 1,67 \times 10^{-3}$	$0,733 \pm 0,051^a$	$5,04 \pm 0,38^{cd}$
T4	$7,30 \times 10^{-3} \pm 2,17 \times 10^{-3}$	$0,752 \pm 0,064^a$	$4,87 \pm 0,44^d$
	Amilase	Lipase (log x)	Triacilglicer\u00f3is
	($\text{U L}^{-1} \text{mg de prote\u00edna}^{-1}$)	($\text{U L}^{-1} \text{mg de prote\u00edna}^{-1}$)	($\text{U L}^{-1} \text{mg de prote\u00edna}^{-1}$)
T1	$9,08 \pm 0,88^b$	$0,972 \pm 0,154^c$	$3,71 \pm 0,63$
T2	$9,02 \pm 1,12^b$	$0,971 \pm 0,171^c$	$3,51 \pm 0,61$
T3	$10,36 \pm 1,48^a$	$1,213 \pm 0,411^b$	$4,22 \pm 0,85$
T4	$11,35 \pm 1,16^a$	$1,659 \pm 0,068^a$	$4,03 \pm 1,23$

FONTE: O autor (2021)

NOTAS: Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferen\u00e7a significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Os valores m\u00e9dios de tripsina e triacilglicer\u00f3is n\u00e3o diferiram significativamente entre os tratamentos ($p > 0,05$). Para amilase e quimotripsina, os valores m\u00e9dios observados em T3 e T4 foram maiores do que em T1 e T2. Para prote\u00edna, o maior valor observado foi em T1 e o menor em T4. Para lipase, os menores valores foram observados em T1 e T2, os quais n\u00e3o diferiram significativamente entre si, mas foram diferentes para T3 e T4, sendo esse segundo o maior valor entre os tratamentos ($p < 0,05$).

4 DISCUSSÃO

As maiores concentrações de amônia total ($0,2108\text{mg L}^{-1}$) e nitrito ($0,1275\text{mg L}^{-1}$) ficaram dentro do nível de segurança estabelecido para juvenis de *L. vannamei* em salinidade entre 25 e 35g L^{-1} (LIN; CHEN, 2001; LIN; CHEN, 2003), portanto, pode-se dizer que essas variáveis não influenciaram no desempenho dos camarões.

Os valores de pH observados estão acima do recomendado para camarões e fora da faixa recomendada para *L. vannamei* (VAN WYK et al., 1999), no entanto, isso não parece ter afetado o desempenho dos animais. Considerando que não houve diferença de pH entre os tratamentos, de forma a favorecer algum deles, pode-se dizer que essa variável por si só não influenciou os resultados do experimento. No entanto, 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), da mesma forma é influenciada pela temperatura (RANDALL; TSUI, 2002; SREEKAKULA et al., 2019; VAN WYK et al., 1999). De acordo com Van Wyk et al., (1999), é recomendado que a quantidade de amônia tóxica não ultrapasse $0,03\text{mg L}^{-1}$. Para fins de monitoramento, o autor propõe uma tabela na qual é possível estimar a proporção de amônia tóxica em função do pH e temperatura, aplicada neste experimento. Os maiores valores foram observados em T3 e T4 na última semana encontram-se entre $0,035$ e $0,083\text{mg L}^{-1}$ aproximadamente (amônia total, T3: $0,193\text{mg L}^{-1}$; T4: $0,1486\text{mg L}^{-1}$). Nas demais semanas, a proporção de amônia tóxica só ultrapassou esse limite para T3 (aprox. $0,039\text{mg L}^{-1}$) e T4 (aprox. $0,032\text{mg L}^{-1}$) na primeira coleta. Mesmo apresentando os maiores valores de amônia tóxica (sem diferença estatística), o desempenho dos animais foi melhor nos tratamentos com probiótico.

Em relação ao SST, Gaona et al. (2016), observaram que valores de 250 a 4000mg L^{-1} , parecem não afetar o desempenho de *L. vannamei*, quando as concentrações de oxigênio dissolvido são mantidas acima de 5mg L^{-1} . Com base nessa informação é possível afirmar que as concentrações de SST observadas nesse experimento (entre 165mg L^{-1} e $576,7\text{mg L}^{-1}$) não influenciaram o desempenho dos camarões. Apesar de em T1, T2 e T3 a concentração média de oxigênio dissolvido ter sido abaixo de 5mg L^{-1} , os valores foram muito próximos, sendo a menor média, $4,94\text{mg L}^{-1}$.

O probiótico não promoveu diferenças significativas nas demais variáveis de qualidade de água entre os tratamentos, sugerindo que os microrganismos naturalmente presentes no biofilme foram eficientes na manutenção do equilíbrio do sistema. Essa afirmação pode ser apoiada por outros autores (DE SOUZA et al., 2012; FERREIRA et al., 2017;

FROZZA et al., 2021) que também não observaram diferenças na qualidade de água em função do uso de probiótico em sistema de bioflocos. Com exceção do pH, todas as variáveis de qualidade de água avaliadas neste estudo foram mantidas dentro dos valores recomendados para a espécie por Van Wyk et al. (1999), Rajkumar et al. (2016) e Kumar et al. (2018).

O probiótico avaliado neste estudo é composto principalmente por bactérias ácido lácticas, leveduras, *B. subtilis*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus casei* e *Saccharomyces cerevisiae*. Essa variedade de espécies que compõe o probiótico tem por objetivo aumentar a diversidade da microflora no trato digestivo, agindo de forma sinérgica na promoção de benefícios para o desenvolvimento dos camarões. Wang et al. (2019), observaram que a mistura de probióticos (*Lactobacillus pentosus*, *L. fermentum*, *Bacillus subtilis*, e *Saccharomyces cerevisiae*) foi mais eficiente no desempenho de crescimento e estado de saúde do camarão do que a adição desses probióticos isolados.

O uso de probióticos na aquicultura vem sendo estudado como suplemento na dieta, e promovendo vários benefícios, por exemplo, o aumento das respostas imunológicas de *L. vannamei*, por meio de elevação de metabólitos importantes na regulação desse sistema, como monofosfato de inosina, valina e betaína, observada por Huynha et al. (2018). A partir da suplementação com *Lactobacillus plantarum*, Sánchez-Ortiz, et al. (2016), e Yu et al. (2020) observaram uma redução da mortalidade de *L. vannamei* provocada por *V. harveyi*. De Souza et al. (2012) observaram diminuição das concentrações de *Vibrio* na água em função do uso de probiótico. No presente estudo não foram observadas diferenças nas concentrações de *Vibrio* entre os tratamentos para água ou hepatopâncreas, entretanto, é válido especular que, com a presença desse agente patogênico em todos os tratamentos, aqueles que utilizaram probiótico obtiveram uma taxa de sobrevivência maior, apesar de não diferir estatisticamente. Possivelmente o uso do probiótico auxiliou na resposta imune dos animais, podendo servir como meio de prevenção de doenças e estimulante imunológico, apresentando-se então como alternativa ao tratamento de doenças com medicamentos e produtos químicos, que podem gerar resíduos indesejáveis no ambiente e no produto final (LIEKE et al., 2020).

Neste estudo, o uso do probiótico promoveu melhoras no desempenho dos camarões, com maiores valores de biomassa final (BF) e ganho de biomassa (GB), e maior eficiência na conversão alimentar (CAA), ao contrário do relatado por Ferreira et al. (2017), no qual não foi observada influência no desempenho animal em função do uso de probiótico. Estudos mostraram que os probióticos promovem benefícios ao sistema imunológico (ROOMIANI, AHMADI; GHAENI, 2018) composição da microbiota intestinal (FAN; LI, 2019), morfologia do trato digestivo e atividade enzimática digestiva, que juntos refletem em incremento no

desempenho zootécnico de camarões (AMOA et al., 2019, DE SOUZA et al, 2012). De Souza et al., (2012), obtiveram maior peso final e taxa de crescimento específico nos tratamentos com probiótico, além de maior sobrevivência em um desses tratamentos.

Amoah et al. (2019), observaram benefícios no desempenho (além dos descritos neste estudo), com uma duração mais prolongada, 56 dias, foi possível obter maiores valores de peso final e taxa de crescimento específico. A conversão alimentar também melhorou, no entanto, os valores obtidos neste estudo foram mais eficientes, inclusive no controle. Neste experimento, as diferenças no desempenho não se manifestaram em variáveis individuais, mas coletivas. Além disso, o tempo de experimento (4,5 semanas aprox.) foi curto em relação ao tempo de cultivo usual (13 a 20 semanas; RUIZ-VELAZCO et al., 2021), mesmo assim foi possível observar resultados interessantes.

A ausência de algumas proteases, carboidrases e lipases observada no trato digestivo dos camarões limita a absorção de nutrientes contidos nas macromoléculas, principalmente de ingredientes de origem vegetal. Nesse sentido, o uso de bactérias capazes de produzir essas enzimas ou estimular a produção endógena, pode tornar a digestão mais eficiente (OLMOS et al., 2020; RINGØ et al., 2020). A atuação da quimotripsina, tripsina, amilases e lipases, é determinante para uma maior eficiência no aproveitamento da dieta, pois são enzimas envolvidas na digestão de macromoléculas, como proteínas, carboidratos e lipídeos (TUAN; DUC; HATAI, 2013; NELSON; COX, 2014; MUNAENI et al., 2020). Assim, neste estudo, o aumento na atividade dessas enzimas observado nos tratamentos com uso de probiótico refletiu na melhoria de desempenho mencionada anteriormente. Essa afirmação pode ser sustentada com base nos estudos de Zheng et al. (2018), no qual também observaram melhora no crescimento relacionada a atividade enzimática de *L. vannamei*, e Tsai; Chi; Liu, (2019) que atribuíram um maior crescimento devido a uma melhora na digestibilidade da dieta, associando essa melhora ao incremento da atividade enzimática.

A tripsina e a quimotripsina são proteases que atuam na hidrólise dos peptídeos apresentando especificidades distintas quanto aos aminoácidos sobre os quais atuam, sendo essenciais para a digestão de proteínas (NELSON; COX, 2014). Os valores de quimotripsina foram significativamente maiores nos tratamentos com adição de probiótico, assim como tripsina (apesar deste segundo não apresentar diferença significativa) indicando maior eficiência na digestão desse macronutriente. No estudo de Liu et al. (2009), um isolado de *B. subtilis* se mostrou um grande produtor de protease, capaz de melhorar o desempenho do camarão aumentando a digestibilidade dos alimentos.

Além do incremento na atividade enzimática, alguns estudos apontam modificações na morfologia intestinal. Um bom exemplo é dado por Won et al. (2020), no qual por meio de histologia intestinal de camarões (*L. vannamei*) alimentados com dietas contendo probióticos a base de *B. subtilis*, *Lactococcus lactis* e *Pediococcus pentosaceus*, identificaram aumento nas vilosidades internas que pode ter melhorado a absorção de nutrientes, além de maior espessura da camada muscular do intestino.

Os microrganismos naturais do biofoco promovem vários benefícios ao ambiente de produção e aos animais, fazendo a ciclagem de nutrientes e podendo servir de alimento, além de auxiliar na resistência contra patógenos (AALIMAHMOUDI; AZARM; MOHAMADI, 2017; EMERENCIANO et al., 2017; DE ALMEIDA et al., 2021). Como forma de potencializar os benefícios naturais do biofoco, o uso do probiótico Bio O₂ Camarão[®] foi capaz de melhorar o desempenho de juvenis de *L. vannamei*, conforme mencionado anteriormente, promovendo ganhos em biomassa, e melhoria da taxa conversão alimentar, que são alguns dos fatores que mais influenciam na receita líquida das fazendas de camarão (RUIZ-VELAZCO et al., 2021).

5 CONCLUSÃO

Conforme observado no estudo, e nas condições experimentais, recomendamos administração do TCP Bio O₂ Camarão[®] diariamente, nas doses de 100mL/100.000L em água e 3mL kg⁻¹ de ração na dieta durante a fase inicial de engorda de *L. vannamei* em sistema de biofocos. O uso do probiótico promoveu aumento da atividade enzimática digestiva, proporcionando maior eficiência no aproveitamento da dieta, e conseqüentemente benefícios no desempenho zootécnico de *L. vannamei*, em termos de biomassa final, ganho de biomassa e conversão alimentar. Esses indicadores de desempenho são fatores que influenciam diretamente na lucratividade da atividade de carcinicultura em todas as fases, especialmente na fase de engorda.

REFERÊNCIAS

AALIMAHMOUDI, M.; AZARM, H. M.; MOHAMADI, Y. Biofloc new technology and shrimp disease in super-intensive aquaculture. **International Journal of Fisheries and Aquatic Research**, v. 2, n. 2, p. 17-21, 2017. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/317351367>> Acesso em: 1 jul. 2021.

- ADEL, M. et al. Effect of potential probiotic *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* on growth performance, intestinal microbiota, digestive enzyme activities, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 9, n. 2, p. 150-156, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12602-016-9235-9>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- AFRC, R. F. Probiotics in man and animals. **Journal of applied bacteriology**, v. 66, n. 5, p. 365-378, 1989. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- AMOA, K. et al. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus coagulans* ATCC 7050, improves the growth performance, intestinal morphology, microflora, immune response, and disease confrontation of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Fish & shellfish immunology**, v. 87, p. 796-808, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.029>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. **American Public Health Association (APHA)**: Washington, DC, USA, 2005.
- AVNIMELECH, Y. Biofloc technology: a practical guide book. **World Aquaculture Society**, 2009.
- BAUTISTA-TERUEL, M. N.; EUSEBIO, P. S.; WELSH, T. P. Utilization of feed pea, *Pisum sativum*, meal as a protein source in practical diets for juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, v. 225, n. 1-4, p. 121-131, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00284-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00284-9)> Acesso em: 1 jul. 2021.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)> Acesso em: 1 jul. 2021.
- CARRILLO-FARNÉS, O. et al. A review of digestive enzyme activity in penaeid shrimps. **Crustaceana**, v. 30, n. 3, p. 257-275, 2007. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/20107805>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- DA SILVEIRA, L. G. P. et al. Hyperintensive stocking densities for *Litopenaeus vannamei* grow-out in biofloc technology culture system. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 51, n. 6, p. 1290-1300, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jwas.12718>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- DE ALMEIDA, M. S. et al. Bioeconomic analysis of the production of marine shrimp in greenhouses using the biofloc technology system. **Aquaculture International**, v. 29, n. 2, p. 723-741, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10499-021-00653-1>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- DE SCHRYVER, P. et al. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 125-137, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>> Acesso em: 1 jul. 2021.

- DE SOUZA, D. M. et al. The use of probiotics during the nursery rearing of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) in a zero exchange system. **Aquaculture Research**, v. 43, n. 12, p. 1828-1837, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02992.x>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- EMERENCIANO, M. G. C. et al. Biofloc technology (BFT): a tool for water quality management in aquaculture. **Water quality**, v. 5, p. 92-109, 2017.
- FAN, L.; LI, Q. X. Characteristics of intestinal microbiota in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* differing growth performances in the marine cultured environment. **Aquaculture**, v. 505, p. 450-461, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.075>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Sustainability in action. Rome, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.4060/ca9229en>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- FERREIRA, M. G. P. et al. Bioremediation and biocontrol of commercial probiotic in marine shrimp culture with biofloc. **Latin american journal of aquatic research**, v. 45, n. 1, p. 167-176, 2017.
- FROZZA, A. et al. Probiotics in the rearing of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) in a biofloc system. **Aquaculture Research**, p. 1-9, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/are.15265>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- GAONA, C. A. P. et al. Effect of different total suspended solids concentrations on the growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a BFT system. **Aquacultural Engineering**, v. 72, p. 65-69, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.03.004>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- HUMMEL, B. C. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 12, p. 1393-1399, 1959. Disponível em: <<https://doi.org/10.1139/o59-157>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- HUYNH, T. G. et al. A synbiotic improves the immunity of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Metabolomic analysis reveal compelling evidence. **Fish & shellfish immunology**, v. 79, p. 284-293, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.031>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- JIMÉNEZ-ORDAZ, F. J. et al. Microalgae and probiotic bacteria as biofloc inducers in a hyper-intensive Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) culture. **Latin american journal of aquatic research**, v. 49, n. 1, p. 155-168, 2021. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.3856/vol49-issue1-fulltext-2442>> Acesso em: 1 jul. 2021.
- KATHYAYANI, S. A. et al. Effect of ammonia stress on immune variables of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* under varying levels of pH and susceptibility to white spot syndrome virus. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 184, 109626, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109626>> Acesso em: 1 jul. 2021.

KE, H. M. et al. Comparative genomics of *Vibrio campbellii* strains and core species of the *Vibrio Harveyi* clade. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/srep41394>> Acesso em: 1 jul. 2021.

KEWCHAROEN, W.; SRISAPOOME, P. Probiotic effects of *Bacillus* spp. from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on water quality and shrimp growth, immune responses, and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strains). **Fish & shellfish immunology**, v. 94, p. 175-189, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.013>> Acesso em: 1 jul. 2021.

KRUMMENAUER, D. et al. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal of the world aquaculture society**, v. 42, n. 5, p. 726-733, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00507.x>> Acesso em: 1 jul. 2021.

KUMAR, V. S. et al. Biofloc improves water, effluent quality and growth parameters of *Penaeus vannamei* in an intensive culture system. **Journal of Environmental Management**, v. 215, p. 206-215, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.015>> Acesso em: 1 jul. 2021.

KUMAR, S. D. et al. Baseline assessment of water quality and ecological indicators in *Penaeus vannamei* farm wastewater along the Southeast coast of India. **Marine Pollution Bulletin**, v. 160, 111579, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111579>> Acesso em: 1 jul. 2021.

LIEKE, T. et al. Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 2, p. 943-965, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/raq.12365>> Acesso em: 1 jul. 2021.

LIN, Y. C.; CHEN, J. C. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of experimental marine biology and ecology**, v. 259, n. 1, p. 109-119, 2001. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(01\)00227-1](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(01)00227-1)> Acesso em: 1 jul. 2021.

LIN, Y. C.; CHEN, J. C. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. **Aquaculture**, v. 224, n. 1-4, p. 193-201, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00220-5)> Acesso em: 1 jul. 2021.

LIU, L. et al. A *Vibrio owensii* strain as the causative agent of AHPND in cultured shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 153, p.156-164, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.02.005>> Acesso em: 1 jul. 2021.

LLARIO, F. et al. The role of *Bacillus amyloliquefaciens* on *Litopenaeus vannamei* during the maturation of a biofloc System. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 7, n. 7, p. 228, 2019. Disponível em: <<http://jifro.ir/article-1-3294-fa.html>> Acesso em: 1 jul. 2021.

MUNAENI, W. et al. Impact of dietary supplementation with *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. on intestinal microbiota diversity and growth of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 528, 735466, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735466>> Acesso em: 1 jul. 2021.

NELSON, D.; COX, M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger** 6ª Edição. Porto Alegre, 2014.

OLMOS, J. et al. *Bacillus subtilis*, an ideal probiotic bacterium to shrimp and fish aquaculture that increase feed digestibility, prevent microbial diseases, and avoid water pollution. **Archives of microbiology**, v. 202, n. 3, p. 427-435, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00203-019-01757-2>> Acesso em: 1 jul. 2021.

PEIXOTO, S. et al. Effect of feeding frequency on growth and enzymatic activity of *Litopenaeus vannamei* during nursery phase in biofloc system. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 579-585, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/anu.12591>> Acesso em: 1 jul. 2021.

RAJKUMAR, M. et al. Effect of different biofloc system on water quality, biofloc composition and growth performance in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture Research**, v. 47, n. 11, p. 3432-3444, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/are.12792>> Acesso em: 1 jul. 2021.

RANDALL, D. J.; TSUI, T. K. N. Ammonia toxicity in fish. **Marine pollution bulletin**, v. 45, n. 1-12, p. 17-23, 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00227-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00227-8)> Acesso em: 1 jul. 2021.

RESTREPO, L. et al. Draft genome sequence of pathogenic bacteria *Vibrio parahaemolyticus* strain Ba94C2, associated with acute hepatopancreatic necrosis disease isolate from South America. **Genomics data**, v. 9, p. 143-144, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.gdata.2016.08.008>> Acesso em: 1 jul. 2021.

RINGØ, E. et al. Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture, **Journal of applied microbiology**, v. 129, n. 1, p. 116-136, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jam.14628>> Acesso em: 1 jul. 2021.

ROCHA, J. V. et al. Compensatory growth and digestive enzyme activity of *Litopenaeus vannamei* submitted to feeding restriction in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 12, p. 3653-3662, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/are.14323>> Acesso em: 1 jul. 2021.

ROOMIANI, L.; AHMADI, S.; GHAENI, M. Immune response and disease resistance in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei* induced by potential probiotic Lactobacillus. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 65, n. 3, p. 323-329, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000002863> Acesso em: 1 jul. 2021.

RUIZ-VELAZCO, J. M. et al. Evaluating partial harvesting strategies for whiteleg shrimp *Litopenaeus (Penaeus) vannamei* semi-intensive commercial production: profitability, uncertainty, and economic risk. **Aquaculture International**, v. 29, n. 3, p. 1317-1329. **Journal of applied microbiology**, 129(1), 116-136, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10499-021-00695-5>> Acesso em: 1 jul. 2021.

SÁNCHEZ-ORTIZ, A. C. et al. I. Effect of mixed-*Bacillus* spp isolated from pustulose ark *Anadara tuberculosa* on growth, survival, viral prevalence and immune-related gene

expression in shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & shellfish immunology**, v. 59, p. 95-102, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.10.022>> Acesso em: 1 jul. 2021.

SEIXAS FILHO, J. T. **Revisão sobre as enzimas digestivas nos peixes teleostei e seus métodos de determinação**. Augustus: Rio de Janeiro, Brazil, 8, 2003.

SERRA, F. P. et al. Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture International**, v. 23, n. 6, p. 1325-1339, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10499-015-9887-6>> Acesso em: 1 jul. 2021.

SOMBOON, M. et al. Effect of *Vibrio* spp. in white feces infected shrimp in Chanthaburi, Thailand. **Journal of Fisheries and Environment**, v. 36, n.1, p. 7-15, 2012. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2012/20123306697.pdf>> Acesso em: 1 jul. 2021.

STEFFENS, W. **Principles of fish nutrition**. Ellis Horwood Limited, West Sussex, England, 1989.

TAMILARASU, A. et al. Evaluation of probiotic potential of *Bacillus strains* on growth performance and physiological responses in *Penaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, 2021. v. 52, p. 3124-3136. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/are.15159>> Acesso em: 1 jul. 2021.

TRAN, L. et al. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. **Diseases of aquatic organisms**, v. 105, n. 1, p. 45-55, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.3354/dao02621>> Acesso em: 1 jul. 2021.

TAI, C. Y.; CHI, C. C.; LIU, C. H. The growth and apparent digestibility of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, are increased with the probiotic, *Bacillus subtilis*. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 5, p. 1475-1481, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/are.14022>> Acesso em: 1 jul. 2021.

TUAN, T. N.; DUC, P. M.; HATAI, K. Overview of the use of probiotics in aquaculture. **International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture**, v. 3, n. 3, p. 89-97, 2013.

VAN WYK, P. et al. **Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems**, Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, Florida, 1999.

WANG, L. et al. Isolation and identification of *Vibrio campbellii* as a bacterial pathogen for luminous vibriosis of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, v. 46, n. 2, p. 395-404, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/are.12191>> Acesso em: 1 jul. 2021.

WANG, Y. C. et al. Multiple-strain probiotics appear to be more effective in improving the growth performance and health status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, than single probiotic strains. **Fish & shellfish immunology**, v. 84, p. 1050-1058, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.11.017>> Acesso em: 1 jul. 2021.

WON, S. et al. Evaluation of potential probiotics *Bacillus subtilis* WB60, *Pediococcus pentosaceus*, and *Lactococcus lactis* on growth performance, immune response, gut histology

and immune-related genes in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Microorganisms**, v. 8, n. 2, p. 281, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/microorganisms8020281>> Acesso em: 1 jul. 2021.

XU, W. et al. Production performance, inorganic nitrogen control and bacterial community characteristics in a controlled biofloc-based system for indoor and outdoor super-intensive culture of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 531, 735749, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735749>> Acesso em: 1 jul. 2021.

YU, P. et al. Isolation and identification of pathogenic *Vibrio* spp. retrieved from diseased *Litopenaeus vannamei* and beneficial role of some functional probiotic bacteria for control. **Aquaculture International**, v. 28, n. 4, p. 1403-1420, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10499-020-00530-3>> Acesso em: 1 jul. 2021.

ZHANG, W. et al. A comparative analysis of four internationally traded farmed seafood commodities in China: domestic and international markets as key drivers. **Reviews in Aquaculture**, v. 9, n. 2, p. 157-178, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/raq.12110>> Acesso em: 1 jul. 2021.

ZHENG, X. et al. Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* on growth performance, digestive enzymes and gut morphology of *Litopenaeus vannamei*. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 10, n. 3, p. 504-510, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12602-017-9300-z>> Acesso em: 1 jul. 2021.