

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE ZOOTECNIA**

**JOSELLE CURSINO REDIG**

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM BUTIRATO DE  
SÓDIO E PROBIÓTICO NA ENGORDA DO CAMARÃO  
BRANCO DO PACÍFICO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

**FLORIANÓPOLIS - SC**

**2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE ZOOTECNIA**

**JOSELLE CURSINO REDIG**

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM BUTIRATO DE  
SÓDIO E PROBIÓTICO NA ENGORDA DO CAMARÃO  
BRANCO DO PACÍFICO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

Trabalho de Conclusão do Curso de  
Graduação, apresentado como exigência  
para a obtenção do diploma de  
graduação em Zootecnia pela  
Universidade Federal de Santa Catarina.  
Orientador: Walter Quadros Seiffert

**FLORIANÓPOLIS- SC**

**2015**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Redig, Joselle Cursino

Suplementação dietética com butirato de sódio e  
probiótico na engorda do camarão branco do pacífico em  
sistema de bioflocos / Joselle Cursino Redig ; orientador,  
Walter Quadros Seiffert - Florianópolis, SC, 2015.

35 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agrárias. Graduação em Zootecnia.

Inclui referências

1. Zootecnia. 2. Aquicultura. 3. Litopenaeus vannamei.  
4. Lactobacillus plantarum. 5. butirato de sódio. I.  
Seiffert, Walter Quadros. II. Universidade Federal de  
Santa Catarina. Graduação em Zootecnia. III. Título.


**Joselle Cursino Redig**

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM BUTIRATO DE  
SÓDIO E PROBIÓTICO NA ENGORDA DO CAMARÃO  
BRANCO DO PACÍFICO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

Esta Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso foi julgada aprovada e adequada para obtenção do diploma de graduação em Zootecnia.

Florianópolis, 18 de Junho de 2015.

Banca Examinadora:



Prof.º Walter Quadros Seiffert, Dr.º.  
Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina



Norha Constanza Bolívar Ramírez, M.Sc.  
Universidade Federal de Santa Catarina



Delano Dias Schleder, M.Sc.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Aos meus avós paternos e maternos "*in memoriam*" e  
às minhas famílias Cursino e Redig,  
Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A meu Deus misericordioso, por me guiar e permitir que tudo isso acontecesse na minha vida.

Aos meus avós paternos, João da Mata e Maria José, e maternos, Melquíades e Maria, pelo amor, proteção e carinho que deram aos meus pais e que chegaram até mim.

Aos meus pais, José Júlio e Zélia pelo amor incondicional, paciência e incentivos aos estudos.

Aos meus irmãos Josilene, Josillette, Júnior e Joelson e sobrinhos Antônio Carlos e Maria Clara pelo amor, força e união e entenderem minha ausência ao me dedicar aos estudos.

Aos meus tios Melk, Cláudia, César e Helena por acreditarem e investirem em mim.

Ao meu professor, Felipe Vieira, pelo seu profissionalismo, ensinamentos, disponibilidade e dedicação.

Ao meu orientador, professor Walter Seiffert pela amizade em contribuir com este trabalho.

À família do LCM, Davi, Wilson, Diego, Dimas, Andréa, Paulo, Mari, Leyd, Carlos Miranda, Carlos Manoel, Priscila, Hortência, Fernanda, Tamires, Delano, Cris, Scheila, Lincom, Natália, Ariane e Efrayn, por me ajudarem em todas as minhas dificuldades e, em especial, ao grupo de estudo em microbiologia nas pessoas do Bruno, Mariana, Gabi Soltes, Marysol e Esmeralda que me deram oportunidade de entrar no mundo da pesquisa e à Norha pela oportunidade que me deu em participar do projeto da CNPq e ter paciência em me ensinar.

A todos os professores do curso de Zootecnia da UFSC, pelos ensinamentos no conhecimento dos animais de produção.

Em especial ao meu marido, Guilherme Osório pelo carinho, amor, paciência e conversas, me ajudando noites e dias até chegar nesta etapa da minha vida.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro ao projeto 42/2012 e à bolsa de iniciação científica que viabilizaram a execução deste trabalho.

Meu muito obrigada a todos e todas que colaboraram com este trabalho.

## RESUMO

A carcinicultura marinha é um dos setores mais importantes dentro da aquicultura, porém importantes doenças como a mancha branca e a síndrome da mortalidade precoce têm limitado a produtividade no mundo inteiro. Perante isto, a pesquisa tem mostrado bons resultados envolvendo o manejo ambiental do cultivo e a utilização de aditivos alimentares para melhorar a saúde do camarão. O objetivo deste trabalho foi testar o efeito da adição isolada e conjuntamente de dois suplementos dietéticos, o butirato de sódio e o probiótico de *Lactobacillus plantarum*, em sistema de bioflocos, sobre índices zootécnicos da engorda do camarão branco do pacífico (*Litopenaeus vannamei*) em sistema de bioflocos. Para tanto, foi realizado um experimento inteiramente casualizado com quatro repetições envolvendo quatro tratamentos: 1) ração controle (sem aditivos), 2) probiótico *L. plantarum*, 3) butirato de sódio e 4) probiótico e butirato. Após cinco semanas, observou-se que camarões que consumiram rações contendo butirato de sódio a 2%, tanto isolado como combinado com o probiótico, tiveram pesos finais em torno de 15% menores em comparação ao grupo controle, fato que não ocorreu com a utilização de probiótico como único aditivo. Isto pode estar ligado com o consumo total de ração, 25% menor com o uso de probiótico, já que não foram observadas diferenças na sobrevivência (em torno de 95%) e no fator de conversão alimentar (em torno de 1,4). Fica claro que é necessário se pensar em relações de custo e benefício, envolvendo análises de risco, ao se utilizar este tipo de artifício para lidar com as doenças em sistemas de cultivo de camarões marinhos.

**Palavras-chave:** *Litopenaeus vannamei*; Bactérias Ácido Lácticas; *Lactobacillus plantarum*; Sais Orgânicos.



**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Espécimes de <i>L. vannamei</i> com aproximadamente 4,37g utilizados no experimento.....	17
Figura 2– Inóculo de probiótico contendo <i>L. plantarum</i> a $1 \times 10^7$ UFC.mL <sup>-1</sup> . .....	18
Figura 3 - Processo de adição e mistura do probiótico ou soro estéril nas rações. ....	20
Figura 4 – Ambiente onde foi instalado o experimento. ....	21
Figura 5 - Bandeja indicadora do consumo racional de ração.....	22
Figura 6 - Obtenção de amostras de espécimes para biometria semanal. ....	23
Figura 7 – Evolução do peso médio de camarões marinhos alimentados com dietas contendo o probiótico <i>L. plantarum</i> , o sal orgânico butirato de sódio, a combinação de ambos e a dieta controle. Contrastes estatísticos na tabela 4.27	

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Composições de ingredientes (g/100g) das dietas experimentais utilizadas .....	19
Tabela 2 – Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas .....	20
Tabela 3 – Índices zootécnicos da engorda de camarões marinhos alimentados com dietas suplementadas com probiótico, butirato de sódio e a combinação dos dois em sistema de bioflocos.....	26
Tabela 4 – Parâmetros das equações de crescimento (peso em gramas, y) em função do número de dias em cultivo (x) e estimação do número de dias até o peso de 12 gramas (y=12) .....	28

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVOS.....	11
2.1	Objetivo geral .....	11
2.2	Objetivo Específico.....	11
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	12
3.1	A Importância da Pesquisa com Camarões Marinhos.....	12
3.2	Sistema de Cultivo Superintensivo em Bioflocos .....	13
3.3	Aditivos Alimentares para Camarões .....	14
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	17
4.1	Material Biológico .....	17
4.2	Dietas Experimentais .....	18
4.3	Condições Experimentais.....	21
4.4	Avaliação dos Índices Zootécnicos .....	22
4.5	Análises Estatísticas .....	23
5	RESULTADOS .....	25
6	DISCUSSÃO.....	29
7	CONCLUSÃO .....	31
	REFERÊNCIAS.....	32

## 1 INTRODUÇÃO

A carcinicultura marinha é um dos setores mais importantes dentro da aquicultura. Com uma produção de 3,3 milhões de toneladas, representou 4,8% da produção total do setor e 56% do camarão consumido no mundo em 2012 (FAO, 2015). No Brasil, a produção atual é de 75 mil toneladas (FAO, 2015) envolvendo principalmente a espécie camarão branco do pacífico (*Litopenaeus vannamei*) por possuir potencial de produção em grande escala e apresentar tecnologia de cultivo conhecida e bons resultados zootécnicos. Porém, algumas enfermidades têm desafiado a intensificação dos cultivos, principalmente bacterioses e viroses. O Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV), por exemplo, praticamente dizimou a produção catarinense de camarões e a Síndrome da Mortalidade Precoce (SEM) vem trazendo grandes prejuízos na Ásia e América (LIGHTNER et al., 2012).

Perante isto, algumas soluções têm sido pensadas para uma maior sustentabilidade no processo produtivo, envolvendo em geral o manejo ambiental do cultivo e medidas preventivas como alternativas ao uso de antibióticos. No primeiro caso, as principais discussões envolvem o sistema de bioflocos por possibilitar altas densidades de cultivo com pouca renovação de água e promover interações benéficas entre os organismos cultivados e microorganismos presentes no ambiente (AVNIMELECH, 2006).

Dentre as medidas preventivas, vêm sendo testado vários aditivos alimentares. Destacam-se os probióticos e os ácidos orgânicos, pois acredita-se que as modificações na microbiota intestinal induzida por eles interferem na colonização por bactérias patogênicas, melhorando o desempenho e saúde dos animais (GÓMEZ-GIL et al., 2000). Já os ácidos orgânicos (ou seus sais) possuem ação bactericida comprovada para espécies do gênero *Vibrio*, como por exemplo os ácidos acético e láctico (VÁZQUEZ et al., 2005) e os sais butirato, propionato e acetato de sódio (SILVA et al., 2013). Porém, não há relatos sobre possíveis efeitos benéficos no desempenho de *L. vannamei* envolvendo combinações entre probióticos e ácidos orgânicos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar se existe interação benéfica na adição alimentar de butirato de sódio e o probiótico *Lactobacillus plantarum* sobre o crescimento de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos.

### **2.2 Objetivo Específico**

Avaliar o peso final, ganho de peso semanal, conversão alimentar, sobrevivência, produtividade, consumo total de ração e tendência de ganho de peso ao longo do tempo, em camarões alimentados com o probiótico, o sal orgânico e sua combinação, na engorda em sistema de bioflocos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 A Importância da Pesquisa com Camarões Marinhos

Nas últimas décadas, foram desenvolvidas diferentes técnicas de cultivo de organismos aquáticos devido às limitações do crescimento da atividade pesqueira, pois se tem evidenciado um declínio de populações de peixes e outros organismos devido à superexploração (PONTECORVO & SCHRANK, 2014). Neste cenário, a carcinicultura é uma atividade zootécnica de grande representatividade dentro da aquicultura e, por ser rentável, está em rápida expansão em diversas partes do mundo.

As pesquisas de cultivo de camarão no Brasil iniciaram em 1970. Primeiramente, foram realizadas atividades experimentais com camarões nativos e, depois, com espécies exóticas para avaliar o potencial produtivo. Na década de 90, a introdução da espécie *Litopenaeus vannamei* foi o principal marco para o grande desenvolvimento da carcinicultura no país, já que apresentou ótimos resultados de desempenho zootécnico e aceitação pelo consumidor nas condições brasileiras e, hoje, é a espécie mais cultivada no Brasil e no mundo (NATORI et al., 2011). O camarão branco do pacífico já possuía pacote tecnológico bem desenvolvido e, por isso, houve um rápido crescimento na produção dessa espécie.

Contudo, a indústria mundial do cultivo de camarões vem enfrentando dificuldades para sua expansão devido, principalmente, às enfermidades. Um bom exemplo disto é a Síndrome da Mortalidade Precoce (EMS, do inglês *Early Mortality Syndrome*) que foi relatada primeiramente na China em 2009, expandiu-se para Vietnã e Malásia em 2011 (LIGHTNER et al., 2012) e causou mortalidades massivas no México em 2013 (MAGALLÓN-BARAJAS, comunicação pessoal).

Apenas em 2013 se descobriu o agente etiológico da EMS: uma cepa de *Vibrio parahaemolyticus* altamente patogênica que libera toxinas que causam disfunções no hepatopâncreas e, conseqüentemente, as mortalidades de juvenis de *L. vannamei* 20 a 30 dias após o povoamento de pós-larvas em viveiros (TRAN et al., 2013). Além da presença da mancha branca, a qualquer

momento esta enfermidade pode ingressar no Brasil, e é importante que a indústria esteja preparada para enfrentar este novo desafio.

### **3.2 Sistema de Cultivo Superintensivo em Bioflocos**

Buscando maior biossegurança dos cultivos e aumento da produtividade na aquicultura, foram desenvolvidos sistemas de cultivos intensivos ou superintensivos com baixa renovação de água, destacando-se o sistema de cultivo em bioflocos microbianos (AVNIMELECH, 2006). Neste sistema, a alta relação Carbono/Nitrogênio (C/N) dentro dos sistemas de cultivo estimula o desenvolvimento de bactérias heterotróficas. A partir disto, ocorrem interações entre diferentes organismos como outras bactérias, algas, fungos, protozoários, rotíferos e nematoides que formam um agregado que é o chamado floco microbiano.

É possível o controle de parâmetros de qualidade de água a partir da manipulação desta complexa comunidade microbiana, pois grande parte dos resíduos e metabólitos produzidos pelo sistema são imobilizados pelos microorganismos em biomassa bacteriana (AVNIMELECH & KOCHBA, 2009) que pode ser consumida pelos camarões (WASIELESKY et al., 2006). Este biofloco, além de proteína, contém quantidades importantes de macronutrientes (cálcio, fósforo, potássio e magnésio) e micronutrientes (cobre, ferro, manganês e zinco), assim como aminoácidos e ácidos graxos (MOSS et al., 2006).

No cultivo de camarões em bioflocos, é possível alcançar altas densidades de estocagem (até 5000 pós-larvas/m<sup>3</sup> em fase de berçário e até 500 camarões/m<sup>3</sup> em fase de engorda), com registro de produtividades de até 9,75 kg/m<sup>3</sup> (CORREIA, comunicação pessoal). Trata-se de um sistema de cultivo altamente tecnificado, envolvendo tanques pequenos, na maior parte dos casos cobertos por estufa, revestidos com geomembrana, mão-de-obra especializada, uso contínuo de aeração artificial, pós-larvas de boa procedência e rígido controle de parâmetros de qualidade de água.

### 3.3 Aditivos Alimentares para Camarões

Segundo Balcázar et al. (2007), o uso indiscriminado de antibióticos nos cultivos aquáticos contra as enfermidades, a exemplo das vibrioses, tem levado ao surgimento de bactérias resistentes, o que dificulta a intensificação do cultivo do camarão branco do pacífico. Nesta conjectura, surgem os aditivos alimentares como solução para aumentar a produtividade e diminuir os riscos de epidemias, através da inibição do crescimento de patógenos e ativação do sistema imunológicos dos animais. Para camarões, destacam-se atualmente o uso de probióticos e de ácidos orgânicos ou seus sais.

O uso de probióticos visa reduzir as populações de bactérias patogênicas através da modificação da microbiota intestinal, pois permite a colonização de bactérias benéficas e impede a colonização por bactérias patogênicas no intestino do animal, melhorando o desempenho e saúde do mesmo (GÓMEZ-GIL et al., 2000). Entre as bactérias probióticas utilizadas na aquicultura, destacam-se as bactérias ácido lácticas, por serem de fácil multiplicação, produzir compostos antimicrobianos (bacteriocinas, peróxido de hidrogênio, ácidos orgânicos e láctico) e estimularem a resposta imune não específica nos hospedeiros (GATESOUBE, 2008).

O efeito positivo do uso de probióticos em camarões já tem sido reportado por vários autores. Camarões da espécie *L. stylirostris* tratados com *Pediococcus acidilactici*, por exemplo, alcançaram maiores sobrevivências e uma menor prevalência de *Vibrio nigripulchritudo* quando comparados com o controle durante um ensaio conduzido por Castex et al. (2010). Outra espécie que mostrou-se benéfica em dietas experimentais foi *Lactobacillus plantarum*, aumentando a resposta imune humoral e celular de *L. vannamei* após desafio com *Vibrio alginolyticus* (CHIU et al., 2007) e a sobrevivência desta mesma espécie após infecção com *Vibrio harveyi* (VIEIRA et al., 2007; VIEIRA et al., 2010).

Além de aumentar a resistência frente a enfermidades nos camarões, os probióticos também são capazes de melhorar a digestão dos nutrientes da dieta, a conversão alimentar e taxa de crescimento específica através do incremento da atividade de enzimas digestivas (LIN et al., 2004; ZIAEI-NEJAD et al., 2006; WANG, 2007; ZHOU et al., 2009; BUGLIONE, 2009). Portanto, ao



obter um maior aproveitamento dos nutrientes em camarões alimentados com probióticos, espera-se um maior crescimento dos camarões, uma menor dependência da farinha de peixe e conseqüentemente uma economia no uso da ração.

Como alternativa adicional ao uso de antibióticos, Vazquez et al. (2005) propuseram isolar ácidos orgânicos de peixes como aditivos na alimentação, ao encontrarem que o ácido láctico e o ácido acético (e não as bacteriocinas) foram responsáveis por efeitos inibitórios frente aos vibrios. Estes ácidos orgânicos são capazes de inibir o crescimento de bactérias, principalmente as gram-negativas (LÜCKSTÄDTS, 2007), disponibilizar os minerais das dietas (HOSSAIN; PANDEY; SATOH, 2007), auxiliarem na digestão de proteínas e ativação enzimática (LÜCKSTÄDTS, 2008) e diminuir a poluição por fósforo e nitrogênio na excreta (PANDEY; SATOH, 2008).

Alguns trabalhos utilizando ácidos orgânicos e seus sais têm sido realizados com enfoque na aquicultura, obtendo bons resultados em peixes e alguns crustáceos. O uso de ácidos orgânicos aumenta a digestibilidade aparente de minerais na carpa Rohu (BARUAH et al., 2005; BARUAH et al., 2007), o crescimento, taxa de conversão alimentar e absorção e retenção de nitrogênio e fósforo no pargo vermelho (SARKER et al., 2005; HOSSAIN et al., 2007) e melhora a digestibilidade de lipídeos, cinzas, proteínas, e todos os aminoácidos essenciais e não essenciais em truta arco-íris (MORKEN et al., 2011).

Apesar destes resultados positivos, os ácidos orgânicos possuem o inconveniente de serem, em sua maioria, reagentes líquidos, o que dificulta o manuseio na elaboração das rações. Por isso, os sais destes ácidos poderiam ser uma alternativa mais viável já que, em geral, são comercializados em forma sólida. Em pesquisa com camarões marinhos, Silva et al. (2013) demonstraram que a suplementação de 2% de butirato de sódio na dieta pode resultar em maior atratividade e consumo da ração por juvenis de *L. vannamei*. Adicionalmente, o uso de dieta suplementada com 2% de butirato aumentou o crescimento, a eficiência alimentar e a absorção de fósforo por camarões da espécie *L. vannamei* (SILVA et al., 2014).

A diminuição do pH produzido pelos ácidos orgânicos favorece a colonização de bactérias ácido lácticas, sendo estas mais tolerantes a pH

baixos que as bactérias gram-negativas. Ao mesmo tempo, alguns ácidos orgânicos formam parte dos requerimentos nutricionais das bactérias ácido lácticas (RINGO; GATESOUBE, 1998). Por isso, seria interessante um estudo envolvendo a utilização destes dois aditivos em conjunto. Silva et al. (2013), avaliaram cinco ácidos orgânicos na forma dos seus sais, e relataram que butirato de sódio, propionato de sódio e acetato de sódio apresentaram os melhores resultados para inibição *in vitro* frente a *V. alginolyticus*, *V. harveyi* e *V. anguillarum*. Assim, estes ácidos poderiam ser utilizados em conjunto com bactérias ácido lácticas, melhorando a colonização e efeitos benéficos do uso de probióticos na saúde e nutrição dos animais. Estes resultados poderiam ser de grande benefício tanto para as fases larvais, onde se busca um aumento de resistência contra enfermidades, como para sistemas de engorda, onde se buscam tecnologias para o manejo da dieta, a qualidade de água e o controle de enfermidades.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), com duração de cinco semanas entre os meses de Março e Abril de 2015. Foram avaliados quatro tratamentos: 1) ração controle, 2) uma suplementada com *L. plantarum* a 10% ( $1 \times 10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup>), 3) uma suplementada com butirato de sódio a 2% e 4) uma suplementada com *L. plantarum* a 10% e butirato de sódio a 2%.

### 4.1 Material Biológico

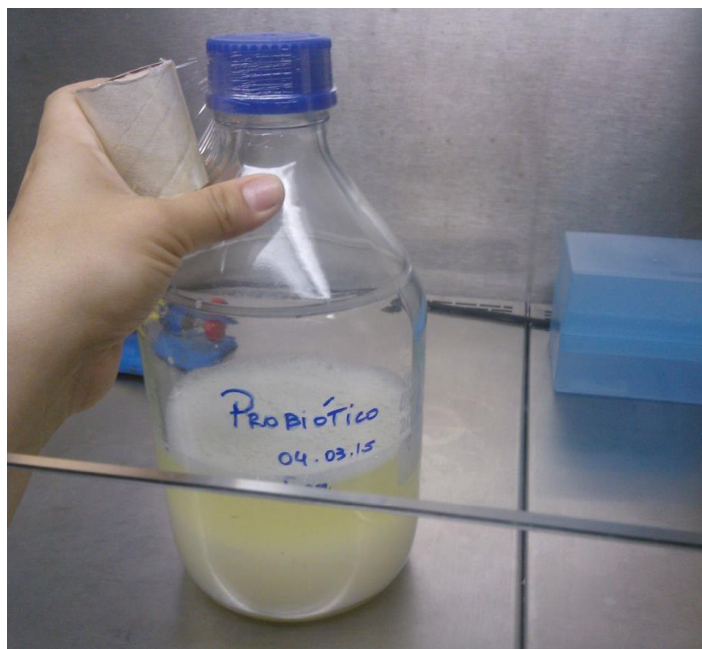
Foram utilizados espécimes de *L. vannamei* com peso médio de  $4,37 \pm 0,04$ g (figura 1) de uma linhagem livre de patógenos específicos (*Specific Pathogen Free*, SPF) de notificação obrigatória pela Organização Internacional de Epizootíases (WSSV, IHNV, TSV, IMNV e YHV). Os náuplios foram originalmente obtidos na Aquatec Aquacultura LTDA, localizada no Rio Grande do Norte, e cultivados no LCM até o início do experimento.



**Figura 1** – Espécimes de *L. vannamei* com aproximadamente 4,37g utilizados no experimento.

A cepa bacteriana utilizada como probiótico foi da espécie *L. plantarum*, isolada de camarões adultos de *L. vannamei* (VIEIRA et al., 2007) e mantida na coleção de microorganismos do setor de microbiologia do LCM. A multiplicação

foi realizada em meio caldo MRS (de Man, Rogosa e Sharpe) com adição de 3% de sal (NaCl), incubada por 24h a 35°C e posteriormente transferida para uma solução contendo soro de leite a  $1 \times 10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup> para a obtenção do volume final adicionado às rações experimentais (figura 2).



**Figura 2**– Inóculo de probiótico contendo *L. plantarum* a  $1 \times 10^7$ UFC.mL<sup>-1</sup>.

## 4.2 Dietas Experimentais

As dietas foram preparadas na fábrica de ração do Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas (LABNUTRI) do departamento de engenharia de aquicultura da UFSC, seguindo o procedimento padrão da AOAC(1999). As formulações foram elaboradas através do software Feedsoft® Professional versão 3.14 (2014) com base nas exigências nutricionais de *L. vannamei* recomendadas (NRC, 2011; Fox et al., 1995). As concentrações dos ingredientes utilizados são mostradas na tabela 1.

Primeiramente, foi feita uma pré-moagem de cada ingrediente seguida de peneiramento em malha de 600µm para uma melhor homogeneidade da mistura. Misturou-se primeiramente os ingredientes líquidos (óleos e lecitina) e sólidos (demais ingredientes) de forma separada. As frações foram misturadas gradativamente com adição de 0,5% de carboximetilcelulose (CMC) como aglutinante. A homogeneização foi feita em misturador Y por 15 min e realizou-se o processo de extrusão (Inbramaq, MX-40) em matriz de 1,5mm com

modelagem da peletização de 2,00 (expansão de 0,5 mm). Os *pellets* foram secos por 18h a 45 °C e retirados para serem armazenados em sacos plásticos a uma temperatura de -20°C até a utilização. As análises metodológicas utilizadas na composição centesimal seguiram o modelo da AOAC (1999).

**Tabela 1** – Composições de ingredientes (g/100g) das dietas experimentais utilizadas

Ingredientes	Dietas Experimentais			
	controle	probiótico	butirato	probiótico+butirato
<b>Farinha de peixe</b>	23,18	23,18	23,18	23,18
<b>Farina de trigo</b>	15	15	15	15
<b>Farelo de soja</b>	42,39	42,39	42,39	42,39
<b>Caulim</b>	8,39	8,39	6,39	6,39
<b>Premix</b>	1,5	1,5	1,5	1,5
<b>Fosfato monocálcico</b>	2	2	2	2
<b>Lecitina</b>	3	3	3	3
<b>Sulfato de Magnésio</b>	0,76	0,76	0,76	0,76
<b>Cloreto sódio</b>	1,2	1,2	1,2	1,2
<b>Óleo de soja</b>	1	1	1	1
<b>Óleo fígado</b>	1	1	1	1
<b>CMC</b>	0,5	0,5	0,5	0,5
<b>Vit C</b>	0,06	0,06	0,06	0,06
<b>Butirato de sódio</b>	0,00	0,00	2,00	2,00
<b>Probiótico</b>	0,00	10,0	0,00	10,00
<b>Probiótico estéril</b>	10,00	0,00	10,00	0,00

Escolheu-se o sal orgânico butirato de sódio, dentre outros, por apresentar bons resultados *in vitro* na inibição de *Vibrio* spp. em trabalhos anteriores no LCM envolvendo diversos sais. De acordo com a adição de butirato de sódio (C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>2</sub>), diminuiu-se a adição do ingrediente neutro (caulim) para que não houvesse diferenças nas concentrações dos nutrientes. O probiótico *L. Plantarum* (1x10<sup>7</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>) foi adicionado na concentração de 10% do volume da ração, de acordo com a metodologia descrita por Vieira et

al. (2007). As dietas que não continham o probiótico receberam o inóculo de soro de leite sem a bactéria probiótica para evitar diferenças entre as dietas. O butirato de sódio, adicionado a 2%, foi obtido da empresa Alfa Aesar (99% de pureza). A matéria seca foi analisada com secagem a 105°C, cinzas com queima a 550°C, proteína total pelo método de Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ), extrato etéreo pelo método de Soxhlet após hidrólise ácida (AOAC, 1999).

**Tabela 2 – Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas**

Ingredientes	Dietas Experimentais			
	controle	probiótico	butirato	probiótico+butirato
<b>Umidade (%)</b>	10,81	10,81	9,21	9,21
<b>Matéria seca</b>	89,19	89,19	90,79	90,79
<b>Proteína bruta</b>	39,51	39,51	40,08	40,08
<b>Extrato etéreo</b>	8,89	8,89 </td <td>8,66</td> <td>8,66</td>	8,66	8,66
<b>Cinzas</b>	21,72	21,72	20,64	20,64

As dietas, depois de preparadas, foram manipuladas dentro da capela para a incorporação de 10% de soro de leite contendo *L. plantarum*, nos tratamentos contendo o probiótico, ou soro de leite estéril nos tratamentos que não continham (figura 3).



**Figura 3** - Processo de adição e mistura do probiótico ou soro estéril nas rações.

### 4.3 Condições Experimentais

Foram utilizados camarões com  $4,37 \pm 0,04$  g em tanques de polietileno de 400 L com água proveniente de um tanque com sistema de bioflocos. Os camarões foram distribuídos na densidade de 300 camarões/m<sup>3</sup>, totalizando 120 camarões em cada unidade experimental, e foram utilizados substratos artificiais needlona® dobrando a área útil do tanque. Isto melhora o ambiente e diminui o estresse dos animais porque o alimento fica aderido ao substrato facilitando a procura pelos animais (SCHVEITZER et al., 2013).

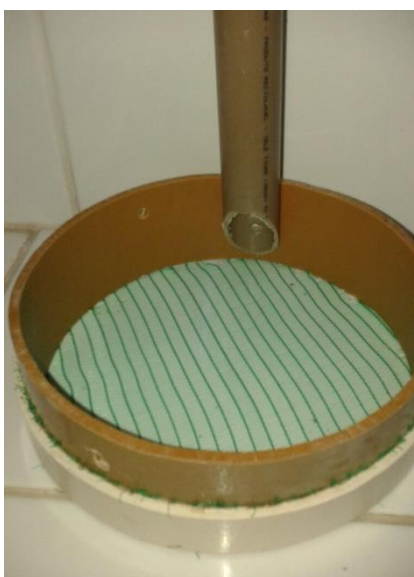


**Figura 4** – Ambiente onde foi instalado o experimento.

O experimento foi realizado em delineamento completamente casualizado com quatro repetições, totalizando 16 unidades amostrais em um ambiente fechado (figura 4). Cada tanque contou com aeração constante ( $O_2 > 4 \text{ mg.L}^{-1}$ ), temperatura controlada com aquecedores de titânio acoplados a termostatos ( $29^\circ\text{C}$ ) e ação de decantadores para remoção de sólidos (mantidos abaixo de  $500 \text{ mg/L}$ ). Duas vezes ao dia eram checadas a temperatura da água e a concentração de oxigênio dissolvido (oxímetro modelo YSI modelo Pro 20) e, duas vezes por semana, a concentração do volume de sólidos decantáveis (cone Imhoff), compostos nitrogenados, pH, alcalinidade e salinidade para manter os parâmetros dentro dos níveis recomendados para cultivo em bioflocos. Fez-se o uso de 20% de cal hidratada, em relação à quantidade de

ração, quando a alcalinidade ficou abaixo de  $120\text{mg.L}^{-1}$ , e de 10% quando a alcalinidade estava entre 120 e  $150\text{mg.L}^{-1}$  e não foi feita renovação de água, apenas reposição com água doce devido à evaporação.

A alimentação foi fornecida, inicialmente, na quantidade de 6% da biomassa dos camarões, sendo 70% a lanço e 30% em bandeja indicadora do consumo de ração (figura 5) com alimentação fornecida quatro vezes ao dia (9:00h; 12:00h; 14:00h e 17:00h). Após uma hora e meia da alimentação, as bandejas eram checadas e a próxima alimentação ajustada de acordo com o consumo.



**Figura 5** - Bandeja indicadora do consumo racional de ração.

#### **4.4 Avaliação dos Índices Zootécnicos**

Foram realizadas pesagens semanais de 20 animais por tanque nos tempos 5, 12, 19, 26, 33 e 39 dias para determinar o peso médio (figura 6). Além disso, foram anotadas as quantidades de alimento ministradas em cada arraçoamento. Após seis semanas de experimento, no 39º dia, foram feitas as avaliações finais para as seguintes variáveis:

- Peso médio final (biomassa final de cada tanque dividido pelo número final de camarões em cada tanque);
- Ganho de peso semanal médio (peso médio final menos o peso médio inicial, dividido pelo número de semanas);



- Fator de conversão alimentar (quantidade total de ração fornecida nos tanques dividido pelo ganho de peso total);
- Sobrevivência (número final dividido pelo o número inicial de camarões de cada tanque, multiplicado por 100);
- Produtividade (biomassa final dividido pelo volume útil de água utilizada em cada tanque);
- Consumo total de ração (soma das quantidades diárias de ração administrada em cada tanque).



**Figura 6** - Obtenção de amostras de espécimes para biometria semanal.

#### **4.5 Análises Estatísticas**

Os dados foram analisados, depois de verificadas as premissas de normalidade e homocedasticidade, por análise de variância unifatorial suplementada pelo teste de separação de médias de Tukey. Com os pesos médios de cada avaliação semanal de cada tanque, foi feita uma análise de regressão via Modelos Lineares com Efeitos Mistos através do método de Máxima Verossimilhança Restrita. Os fatores tempo e tratamento foram considerados como efeitos fixos, enquanto o efeito das medidas realizadas em um mesmo tanque, nos diferentes tempos, foi considerado como aleatório

(medidas repetidas), pois espera-se que sejam correlacionadas. A análise seguiu o seguinte modelo

$$\hat{y}_{ij} = \beta_0 + \beta_{1i}X_j + \beta_{2i}X_j^2 + \varepsilon_{ij}$$

sendo  $\hat{y}_{ij}$  o valor estimado de peso com relação a um tratamento "i" em um tempo "j",  $\beta_0$  é o intercepto (comum a todos os tratamentos),  $\beta_{1i}$  é o coeficiente linear do tratamento "i" no valor "j" de tempo X,  $\beta_{2i}$  é o efeito quadrático do tratamento "i" no valor "j" de tempo  $X^2$  e  $\varepsilon_{ij}$  é o erro associado à estimação do valor de peso quando calculado para o tratamento "i" no tempo "j".

Todas as análises foram realizadas por meio da linguagem computacional R (R CORE TEAM, 2015). As análises de variância e testes de Tukey foram feitas através do pacote básico "stats" e a análise de regressão foi computada através do pacote "nlme" (PINHEIRO et al., 2015), sendo os contrastes dos parâmetros das equações de cada tratamento calculados através do pacote "multcomp" (HOTHORN et al., 2008). Aceitou-se o valor de erro tipo 1 ( $p$ ) de 0,05 como limite máximo para a interpretação de contrastes como significativos em todas as análises.

## 5 RESULTADOS

Após seis semanas de experimento, foi possível observar diferenças em produtividade de até 15%. Os resultados mais significativos foram observados nos tanques com rações controle e com probiótico (tabela 3), nos quais os camarões alcançaram, respectivamente, pesos médios de 15,79g e 15,50g e produtividades de 4508g.m<sup>-3</sup> e 4408g.m<sup>-3</sup>. Observou-se diferenças significativas entre estes pesos e produtividades e os obtidos com a suplementação com butirato de sódio (13,24g e 3832g.m<sup>-3</sup>) e com butirato de sódio em conjunto com o probiótico (13,39g e 3866g.m<sup>-3</sup>), com um alto nível de significância para ambas variáveis na análise de variância ( $p < 0,001$ ). Isto é reflexo dos ganhos de peso semanais, que também apresentaram diferenças bastante significativas ( $p < 0,001$ ). A ração controle propiciou um ganho médio semanal de 1,90g, semelhante à propiciada pela que continha probiótico (1,86g), e ambas foram superiores para esta variável em relação às rações contendo butirato de sódio (1,50g) e probiótico mais butirato de sódio (1,57g).

Estes resultados não estão relacionados com a conversão alimentar, cujo fator ficou em torno de 1,49 para todos os tratamentos (tabela 3), nem com a sobrevivência (95,5%). Porém, o consumo total de ração nos tanques diminuiu em torno de 25% quando os animais foram alimentados com dietas contendo butirato de sódio (1555,0g) e butirato de sódio mais probiótico (1514,8) em relação à ração controle (2058,8g) ou a contendo apenas o probiótico como aditivo (2004,5g), sendo a análise de variância altamente significativa para esta variável também ( $p < 0,001$ ).

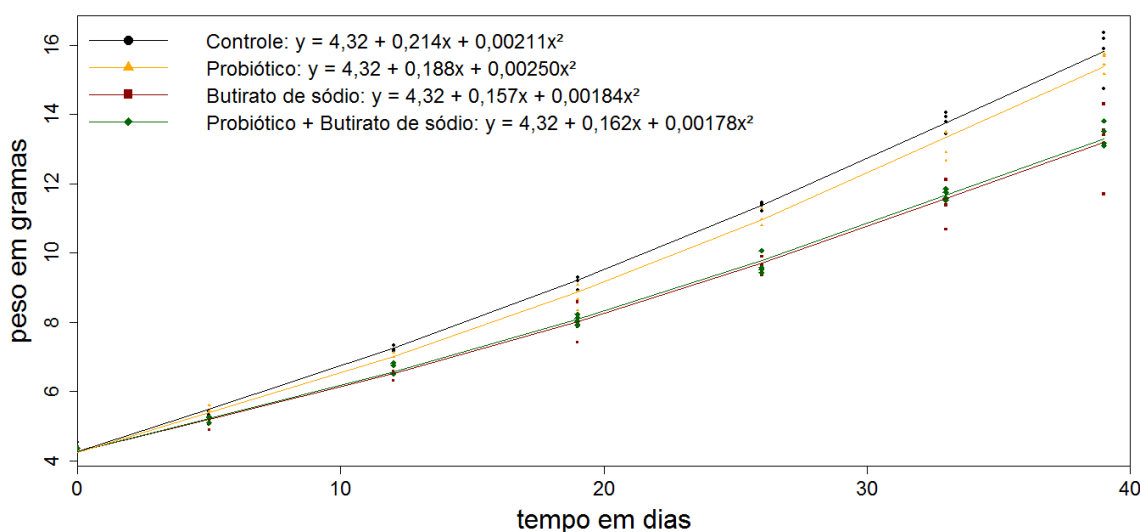
A figura 7 mostra as tendências de crescimento (peso em gramas) em função do tempo de acordo com os quatro tratamentos testados. A abordagem de ajuste utilizada foi a de Modelos Lineares Mistos, por isso valores de  $r^2$  não são computados, porém a Análise de Variância do modelo mostrou probabilidades de erro tipo 1 ( $p$ ) menores que 0,0001 tanto para o intercepto como para os efeitos linear e quadrático. O intercepto foi mantido o mesmo para os quatro ajustes (4,32g), já que todos os camarões saíram de um mesmo tanque inicial (tabela 4). A pequena diferença entre o intercepto desta análise e a média amostral obtida com as pesagens iniciais (4,37g) deve-se ao fato de o intercepto não ser necessariamente uma média, e sim uma estimação a partir

**Tabela 3 – Índices zootécnicos da engorda de camarões marinhos alimentados com dietas suplementadas com probiótico, butirato de sódio e a combinação dos dois em sistema de bioflocos.**

<b>Índices Zootécnicos</b>	<b>controle</b>	<b>probiótico</b>	<b>butirato de sódio</b>	<b>probiótico + butirato de sódio</b>	<b>Valor p</b>
Peso médio inicial (g)*	4,39±0,09	4,37±0,04	4,36±0,03	4,36±0,01	-
Peso médio final (g)	15,79±0,73a	15,50±0,27a	13,24±1,10b	13,39±0,33b	<0,001
Ganho de peso semanal médio (g)	1,90±0,54a	1,86±0,53a	1,50±0,14b	1,57±0,39b	<0,001
Fator de conversão alimentar	1,51±0,10	1,50±0,03	1,49±0,07	1,47±0,03	0,943
Sobrevivência (%)	95,21±1,7	94,79±1,6	95,83±1,0	96,25±1,8	0,931
Produtividade (g.m <sup>-3</sup> )	4508±158a	4408±82,7a	3832±169b	3866±72,5b	<0,001
Consumo total de ração (g)	2058±19,0a	2004±37,4a	1555±118b	1514,8±52,5b	<0,001

**Médias seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.**

do modelo (que não passa necessariamente pelos pontos médios).



**Figura 7** – Evolução do peso médio de camarões marinhos alimentados com dietas contendo o probiótico *L. plantarum*, o sal orgânico butirato de sódio, a combinação de ambos e a dieta controle. Contrastes estatísticos na tabela 4.

Foi escolhido o modelo quadrático completo ( $y = \beta_0 + \beta x + \beta x^2$ ) através dos critérios de informação de Akaike (AIC), Bayesiano (BIC) e logaritmo da verossimilhança (loglik) que foram maiores que os encontrados nos modelos linear ( $y = \beta_0 + \beta x$ ) ou quadrático sem o fator linear ( $y = \beta_0 + \beta x^2$ ). Foram encontradas diferenças apenas no parâmetro linear (tabela 4), pelo teste *t* de *student*, o que é suficiente para dizer que os camarões alimentados com a ração controle possuem uma tendência de ganho de peso em relação ao tempo semelhante à da ração contendo o probiótico e superior às rações contendo butirato de sódio ou este combinado com o probiótico. Porém, não foram encontradas diferenças entre as rações contendo probiótico, butirato e probiótico mais butirato.

Sendo o peso de 12g uma referência para a venda, foram feitas estimativas a partir das equações encontradas para prever em quanto tempo os animais alcançariam, em média, este valor (tabela 4). A ração controle e a que continha probiótico levaram tempos semelhantes, de 28 e 29 dias respectivamente, enquanto as rações contendo probiótico e probiótico mais butirato levaram, respectivamente, 35 e 34 dias. Portanto, a utilização do probiótico poderia atrasar entre cinco e sete dias a venda de camarões de 12g caso fosse utilizado butirato de sódio na ração (nas condições de produção deste experimento).

**Tabela 4 – Parâmetros das equações de crescimento (peso em gramas, y) em função do número de dias em cultivo (x) e estimação do número de dias até o peso de 12 gramas (y=12)**

<b>Tratamentos</b>	<b><math>\beta_0</math></b>	<b><math>\beta x</math></b>	<b><math>\beta x^2</math></b>	<b>função</b>	<b>y=12</b>
<b>Controle</b>	4,32	0,214a	0,00211	$y = 4,32 + 0,214x + 0,00210x^2$	28 dias
<b>Probiótico</b>	4,32	0,188ab	0,00250	$y = 4,32 + 0,188x + 0,00250x^2$	29 dias
<b>Butirato</b>	4,32	0,157b	0,00184	$y = 4,32 + 0,157x + 0,00184x^2$	35 dias
<b>Butirato+Probiótico</b>	4,32	0,162b	0,00187	$y = 4,32 + 0,162x + 0,00187x^2$	34 dias

**Médias seguidas de uma mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: médias sem diferença significativa.**

## 6 DISCUSSÃO

Esperava-se que a adição de *L. plantarum* e/ou butirato de sódio tivesse efeito benéfico sobre os índices zootécnicos da engorda de *L. vannamei*. Porém, não foi isto o que foi observado no presente estudo. Apesar de não terem sido realizados estudos e análises específicas, é possível levantar alguns resultados de trabalhos com relação ao apresentado neste estudo quanto ao uso do probiótico e o butirato de sódio na dieta levando em consideração o sistema de cultivo e a diminuição no consumo da ração.

Referente ao sistema de cultivo, Silva et al. (2014) encontrou diferença positiva no ganho de peso de *L. vannamei* em águas claras com a utilização de butirato de sódio, porém não encontrou diferença quando repetiu o teste em sistema de bioflocos. Seriam necessários mais estudos sobre a interação entre a utilização deste aditivo e o sistema de cultivo, já que os efeitos positivos são relatados apenas em águas claras para *L. vannamei* e algumas espécies de peixes (HOSSAIN ET AL., 2007; GAO et al., 2011; ROBLES ET AL., 2013; SILVA et al., 2014). Cabe ressaltar que os trabalhos que discutem uma maior sobrevivência com o uso do butirato para camarões apresentam valores de sobrevivência na testemunha muito abaixo dos valores do presente estudo. Silva et al., (2014), por exemplo, relatam aumentos da ordem de 20%, porém isto não poderia ser visível no presente estudo em que todas as sobrevivências foram da ordem de 95%.

Quanto à diminuição no consumo da ração, Hamer et al. (2008) relataram que o butirato de sódio pode trazer uma maior sensação de saciedade quando humanos se alimentam, o que também pode ser relevante para o presente relato sobre o consumo de rações por *L. vannamei*. A diminuição no consumo de ração também poderia estar relacionada com a aceitação da ração pelos animais, já que o ácido butírico possui um forte odor característico que possivelmente diminuiu a atratividade e conseqüentemente o consumo, já que a percepção química é um fator extremamente limitante do consumo para camarões (COSTERO & MEYERS, 1993; PITTET et al., 1996). A princípio isto contraria o resultado obtido por Silva et al., (2014), que testaram a atratividade de rações contendo butirato e obtiveram resultados positivos em

águas claras, por isso a questão da saciedade parece ser um argumento mais forte.

Quanto ao probiótico de *L. plantarum*, o uso não interferiu nos índices zootécnicos em sistema de bioflocos, o que corrobora os resultados obtidos por Vieira et al. (2007; 2010) e Castex et al. (2010). Existem resultados de maior ganho de peso, mudanças positivas na microbiota intestinal e aumento da sobrevivência quando há o desafio com *Vibrio harveyi* (VIEIRA, 2010; KONGNUM & HONGPATTARAKERE, 2012); por isso, o uso de *L. plantarum* como probiótico em rações seria interessante para diminuições de riscos com doenças, visto que as fazendas de cultivo são ambientes bastante expostos. No Ceará, por exemplo, Costa et al. (2008) encontraram diversas espécies do gênero *Vibrio* infectando camarões ou na água de viveiros em uma fazenda de cultivo, incluindo algumas cepas de *V. cholerae* resistentes aos antibióticos sulfazotrim, ampicilina e ceftriaxona.



## 7 CONCLUSÃO

Do presente estudo, pode-se concluir que:

As dietas utilizadas não influenciaram na conversão alimentar e na sobrevivência do *L. vannamei* em comparação com a dieta controle.

A adição do probiótico *L. plantarum* não influenciou no consumo de ração, ganho de peso e produtividade.

A adição de butirato de sódio causou um menor consumo de ração, ganho de peso e produtividade.

Não houve interação benéfica na adição alimentar de butirato de sódio e do probiótico em sistema de bioflocos.

## REFERÊNCIAS

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. Washington, DC: AOAC, 1999.
- AVNIMELECH, Y. Bio-filters: The need for a new comprehensive approach. **Aquacultural Engineering**, v. 34, n. 1, p. 172-178, 2006.
- AVNIMELECH, Y.; KOCHBA, M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using <sup>15</sup>N tracing. **Aquaculture**, v.287, n. 1, p. 163-168. 2009.
- BALCÁZAR, J. L.; ROJAS-LUNA, T.; CUNNINGHAM, D. P. Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 96, n. 2, p. 147-150, 2007.
- BARUAH, K et al. Dietary protein level, microbial phytase, citric acid and their interactions on bone mineralization of *Labeorohita* (Hamilton) juveniles. **Aquaculture Research**, v. 36, n. 1, p. 803-812, 2005.
- BARUAH, K.; SAHU, P., A.K.; DEBNATH, D.; YENGGOKPAM, S. Interactions of Dietary Microbial Phytase, Citric Acid and Crude Protein Level on Mineral Utilization by Rohu, *Labeorohita* (Hamilton), Juveniles. **Journal Of The World Aquaculture Society**, v. 38, n. 2, p. 238-249, 2007.
- BUGLIONE-NETO, C. C. **Efeito da adição do probiótico sobre a digestibilidade aparente da proteína, energia e matéria seca em ração comercial para *Litopenaeus vannamei***. 2009. 42f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Pos-graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.
- CASTEX, M. et al. Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress of *Litopenaeus stylirostris* under *Vibrio nigripulchritudo* challenge. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 28, n. 4, p. 622-631, 2010.
- CHIU, C. H. et al. Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 23, n. 2, p. 364-377, 2007.
- CORREIA, E. Comunicação pessoal, 2014.
- COSTA, R. A. et al. Susceptibilidade "in vitro" a antimicrobianos de estirpes de *Vibrio* spp. isoladas de camarões (*Litopenaeus vannamei*) e de água de criação destes animais provenientes de uma fazenda de camarões no Ceará. Nota prévia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n.6, p. 458-462, 2008.
- COSTERO, M.; MEYERS, S. P. Evaluation of chemoreception by *Penaeus vannamei* under experimental conditions. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 55, n. 3, p. 157-162, 1993.
- FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations). **Seção Fisheries and Aquaculture Department**. Roma: SOFIA, 2015. Disponível em:

<<http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/query/en>>. Acesso em: 27/04/2015.

Feedsoft Corporation. **Feedsoft® Professional versão 3.14**. Richardson, TX, USA. 2014. Disponível em: <<https://www.feedsoft.com>>.

FOX, J. M.; LAWRENCE, A. L.; LI-CHAN, E. Dietary requirement for lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and free amino acid sources. **Aquaculture**, v. 131, n. 3, p. 279-290, 1995.

GAO, Y. et al. Supplementation of fishmeal and plant protein-based diets for rainbow trout with a mixture of sodium formate and butyrate. **Aquaculture**, v. 311, n. 1, p. 233-240, 2011.

GATESOUBE, F. J. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. **Journal of molecular microbiology and biotechnology**, v. 14, n. 1-3, p. 107-114, 2008.

GOMEZ-GIL, B.; ROQUE, A.; TURNBULL, J. F. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. **Aquaculture**, v. 191, n. 1-3, p. 259-270, Nov 20 2000.

HAMER, H. M. et al. Review article: the role of butyrate on colonic function. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 27, n.2, p. 104-119, 2008.

HOSSAIN, M.A.; PANDEY, A.; SATOH, S. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in red sea bream *Pagrus major*. **Fisheries Science**, v. 73, p. 1309 – 1317, 2007.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous inference in general parametric models. **Biometrical Journal**, v. 50, n. 3, p. 346-363, 2008.

KONGNUM, K.; HONGPATTARAKERE, T. Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi*. **Fish & shellfish immunology**, v. 32, n. 1, p. 170-177, 2012.

LIGHTNER, D. V. et al. Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. **Global Aquaculture Advocate Magazine**, p. 40, jan/fev de 2012.

LIN, H. Z., et al. Effect of dietary probiotics on apparent digestibility coefficients of nutrients of white shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone. **Aquaculture Research**, v. 35, p. 1441-1447, 2004.

LÜCKSTÄDTS, C. The use of acidifiers in fish nutrition. **Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 44, n. 3, p. 1 – 8, 2008.

MAGALLÓN-BARAJAS, F. Comunicação pessoal. 2013.

MORKEN, T. et al. Sodium diformate and extrusion temperature affect nutrient digestibility and physical quality of diets with fish meal and barley protein concentrate for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 317, n. 1, p. 138-145, 2011.

MOSS, S.M.; FORSTER, I.P.; TACON, A.G.J. Sparing effect of pond water on vitamins in shrimp diets. **Aquaculture**, v. 258, p. 388–395, 2006.

NATORI, M. M. et al. Desenvolvimento da Carcinicultura Marinha no Brasil e no mundo: avanços Tecnológicos e Desafios. **Informações Econômicas**, v. 41, n. 2, p. 61-73, 2011.

NRC. National Research Council. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. Washington, DC: The National Academic Press, 2011. 1 ed.

PANDEY, A.; SATOH, S. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Fisheries Science**, v. 74, p. 867-874, 2008.

PINHEIRO J., et al. **\_nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models\_**. R package version 3.1-120. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=nlme>>.

PITTET, A. O.; ELLIS, J. C.; LEE, P. G. Methodology for the identification and quantitative measurement of chemical stimulants for penaeid shrimp. **Aquaculture Nutrition**, v. 2, n. 3, p. 175-182, 1996.

PONTECORVO, G.; SCHRANK, W. E. The continued decline in the world catch of marine fish. **Marine Policy**, v. 44, p. 117-119, 2014.

RINGO, E.; GATESOUBE, F. J. Lactic acid bacteria in fish: a review. **Aquaculture**, v. 160, n. 3-4, p. 177-203, Jan 30 1998.

ROBLES, R. et al. Effect of partially protected butyrate used as feed additive on growth and intestinal metabolism in sea bream (*Sparus aurata*). **Fish physiology and biochemistry**, v. 39, n. 6, p. 1567-1580, 2013.

SARKER, S.A.; SATOH, S.; KIRON, V. Supplementation of citric acid and amino acid-chelated trace element to develop environment-friendly feed for red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, v.248, p. 3– 11, 2005.

SCHVEITZER, R. et al. Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: effects on microbial activity, water quality and production rates. **Aquacultural Engineering**, v. 54, p. 93-103, 2013.

SILVA, B. C. et al. Butyrate and propionate improve the growth performance of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, v. 1, n. 12, 2014.

SILVA, B.C. et al. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. **Aquaculture**, v. 384, n. 1, p.104-110, 2013.1

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. Vienna: Austria, 2015, v. 3.2.0. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>.

TRAN, L. et al. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. **Diseases Aquatic Organisms**, v. 105, p 45-55, 2013.

VÁZQUEZ, J. A.; GONZÁLEZ, M. P.; MURADO, M. A. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. **Aquaculture**, v. 245, n. 1-4, p. 149-161, 2005.

VIEIRA, F. N. et al. Effect of probiotic supplemented diet on marine shrimp survival after challenge with *Vibrio harveyi*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 631-638, 2010.

VIEIRA F.N. et al. Lactic-acid bacteria increase the survival of marine shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after infection with *Vibrio harveyi*. **Brazilian journal of oceanography**, v. 55, n.4, p. 251-255, 2007.

WANG, Y.-B. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 269, n. 1-4, p. 259-264, 2007.

WASIELESKY, W. et al. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v.258, p.396–403, 2006.

ZHOU, X. X.; WANG, Y. B.; LI, W. F. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. **Aquaculture**, v. 287, p. 349-353, 2009.

ZIAEI-NEJAD, S. et al. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Saeed. **Aquaculture**, v. 252, p. 516– 524, 2006