

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
CURSO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA

Camilla Souza Miranda

Avaliação de Viligen^{NE} como aditivo alimentar para o camarão-branco-do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos durante a fase de berçário

Florianópolis

2023

Camilla Souza Miranda

Avaliação de Viligen^{NE} como aditivo alimentar para o camarão-branco-do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos durante a fase de berçário

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Graduação em Engenharia de Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Aquicultura

Orientador (a): Prof. (a) Dr. (a) Scheila Anelise Pereira Dutra

Florianópolis

2023

Miranda, Camilla Souza

Avaliação de Viligen NE como aditivo alimentar para o camarão-branco-do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos durante a fase de berçário / Camilla Souza Miranda ; orientadora, Scheila Anelise Pereira Dutra, 2023.

36 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Graduação em Engenharia de Aquicultura, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia de Aquicultura. 2. aquicultura. 3. Litopenaeus vannamei. 4. bioflocos. 5. aditivo alimentar. I. Dutra, Scheila Anelise Pereira. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia de Aquicultura. III. Título.

Camilla Souza Miranda

**Avaliação de Viligen^{NE} como aditivo alimentar para o camarão-branco-do-pacífico
cultivado em sistema de bioflocos durante a fase de berçário**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Aquicultura e aprovado em sua forma final pelo Departamento do Curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 13 de junho de 2023.



Marcos C. P. de Albuquerque
Coordenação do Curso

Banca examinadora



Prof.(a) Dr.(a) Scheila Anelise Pereira Dutra
Orientadora



Dr.(a) Priscila Costa Rezende
Universidade Federal de Santa Catarina



Dr.(a) Jaqueline da Rosa Coelho
Universidade Federal de Santa Catarina

Esse trabalho é dedicado especialmente aos meus pais, Carlos e Josiane.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Carlos Alberto Miranda e Josiane Judite de Souza, por sempre me incentivarem e me apoiarem nos estudos, por me proporcionarem a melhor educação que eu poderia ter e por vibrarem comigo a cada conquista. Obrigada por permitirem dedicar-me exclusivamente aos estudos durante todos esses anos e especialmente na graduação, sem vocês eu dificilmente teria conseguido. Eu amo vocês!

Agradeço à minha família e especialmente aos meus avós, Judite e Heitor (*in memoriam*) por sempre se mostrarem orgulhosos. As palavras de carinho e orgulho de vocês sempre foram combustíveis para seguir em frente.

Agradeço aos meus amigos da vida e aos amigos que fiz ao longo do curso. Daiana, Sara, Léo, Letícia, Lethicia, Júlia, Patriula, Marina, Maria, Isabela, sem vocês esses anos não seriam tão especiais. Agradeço ao Allan por ter sido meu maior apoiador e incentivador em diversos momentos difíceis dessa trajetória final. Obrigada por trazer leveza e calma quando mais precisei.

Agradeço especialmente a minha eterna dupla Daniele. Ter te encontrado nesse caminho fez tudo se tornar mais fácil. Foi mais fácil superar uma nota baixa, completar uma lista de exercícios, terminar projetos que pareciam não dar tempo, discutir divertidamente sobre os assuntos antes das provas e pela parceria sensacional nos congressos e viagens. Obrigada por me dar a mão e seguir comigo literalmente da primeira à última fase do curso. Ganhei uma amiga para a vida toda.

Agradeço a toda equipe do LCM, especialmente ao Felipe por me orientar e supervisionar nesses 5 anos. Agradeço pelos ensinamentos e receptividade de todos logo quando cheguei. Agradeço a Daniele, Jamilly, Isabela, Flávia e Ramon por se tornarem meus amigos e tornarem cada café e almoço (com Coca-cola geladina) num momento divertido e leve, principalmente depois da pandemia. Foi uma honra poder trabalhar com vocês e ter o LCM como uma segunda casa. Certamente foi fundamental para a minha formação.

Agradeço a Scheila, por aceitar ser minha orientadora neste trabalho e ser a amiga mais sorridente que eu tenho. Você é especial!

Agradeço a Priscila e Jaqueline por aceitarem fazer parte da banca avaliadora. Agradeço a UFSC, ao CCA e aos professores do Departamento de Aquicultura, me sinto muito realizada. Obrigada!

RESUMO

O cultivo do camarão marinho em sistema de bioflocos, além de controlar o excesso de compostos nitrogenados, como amônia e nitrito, permite ao cultivo utilizar menor volume de água, maior biossegurança e densidade de estocagem. Entretanto, pela alta densidade de animais e matéria orgânica, essa condição pode culminar em consequências negativas, como: estresse, supressão imunológica, má nutrição, proliferação de bactérias patogênicas tanto no sistema de produção quanto na microbiota intestinal, entre outros efeitos. Dessa forma, métodos alternativos ao uso de antibióticos, que são frequentemente utilizados de forma errônea e preventiva, são estudados para controlar possíveis patógenos e melhorar o quadro geral de saúde dos camarões. Entre as alternativas, cita-se os aditivos alimentares como butirato de sódio, levedura hidrolisada e proteinato de zinco. Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar o Viligen^{NE} (Alltech®, EUA), composto por butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco como aditivo alimentar para o camarão *Penaeus vannamei*, cultivado em sistema de bioflocos, na fase de berçário, sobre os parâmetros zootécnicos, microbiológicos e resistência ao choque térmico. Para isso, os camarões foram alimentados por seis semanas com quatro dietas experimentais: a) 0,5 g kg⁻¹; b) 1 g kg⁻¹; c) 2 g kg⁻¹; d) controle (0 g kg⁻¹). Os parâmetros de qualidade de água se mantiveram dentro dos limites ideais para a espécie criada em bioflocos. Os parâmetros zootécnicos dos camarões foram influenciados positivamente quando suplementados com doses crescentes do Viligen^{NE} de 0,5 e 1 g kg⁻¹ proporcionando maior peso final e taxa de crescimento específico. Portanto, a adição de 0,5 e 1 g kg⁻¹ de Viligen^{NE} na dieta melhora o desempenho zootécnico dos camarões na fase de berçário cultivados em bioflocos, e isso pode ser explicado pela ação conjunta dos componentes do aditivo alimentar, prevenindo a oxidação de aminoácidos, melhorando a assimilação de nutrientes e, conseqüentemente, promovendo melhor crescimento dos camarões. No entanto, a suplementação com Viligen^{NE} não afetou a contagem total de bactérias heterotróficas e *Vibrio* spp. no intestino e mortalidade após choque térmico. Além disso, através da regressão polinomial, estimou-se o nível ótimo de inclusão em 1,17 g kg⁻¹ de Viligen^{NE} para a maior resposta, em termos de peso final e taxa de crescimento específico. Porém, mais estudos são necessários para determinar a duração e concentração ideal de suplementação dietética com Viligen^{NE} para otimizar em conjunto os parâmetros zootécnicos, microbiota intestinal e mortalidade após choque térmico.

Palavras-chave: *Penaeus vannamei*; parâmetros zootécnicos; choque térmico.

ABSTRACT

The cultivation of marine shrimp in a biofloc system, in addition to controlling the excess of nitrogenous compounds, such as ammonia and nitrite, allows the cultivation to use less water, greater biosecurity and storage density. However, due to the high density of animals and organic matter, this condition can lead to negative consequences, such as: stress, immune suppression, poor nutrition, expectations of pathogenic expressions both in the production system and in the intestinal microbiota, among other effects. In this way, alternative methods to the use of antibiotics, which are often used erroneously and preventively, are studied to control possible pathogens and improve the overall health of the shrimp. Among the alternatives, food additives such as sodium butyrate, hydrolyzed yeast and zinc proteinate are mentioned. Thus, the objective of this work is to evaluate Viligen^{NE} (Alltech®, USA), composed of sodium butyrate, dehydrated hydrolyzed yeast and zinc proteinate as a food additive for the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*, cultivated in a biofloc system, in the nursery phase, on zootechnical parameters, intestinal microbiota and resistance to thermal shock. For this, the shrimp were fed for six weeks with four experimental diets: a) 0.5 g kg⁻¹; b) 1 g kg⁻¹; c) 2 g kg⁻¹, d) control (0 g kg⁻¹). The water quality parameters remained within the ideal limits for the species raised in biofloc. The zootechnical parameters of shrimp, in turn, were positively influenced when supplemented with increasing doses of Viligen^{NE} from 0.5 to 1g kg⁻¹, providing higher final weight and specific growth rate. This can be explained by the joint action of the components of the food additive, preventing the presentation of amino acids, facilitating the assimilation of nutrients and, consequently, promoting better shrimp growth. However, Viligen^{NE} supplementation did not affect total heterotrophic bacteria count and *Vibrio* spp. in the intestine and mortality after heat shock. Through polynomial regression, the optimal inclusion level of 1.17 g kg⁻¹ of Viligen^{NE} was estimated for the highest response, in terms of final weight and specific growth rate. More studies are needed to determine the optimal duration and concentration of dietary supplementation with Viligen^{NE} to jointly optimize zootechnical parameters, intestinal microbiota and mortality after thermal shock.

Keywords: *Penaeus vannamei*; zootechnical parameters; thermal shock.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Desempenho zootécnico do camarão *Penaeus vannamei* criado em sistema de bioflocos, alimentados com dietas contendo 0,5, 1 e 2g kg⁻¹ de Viligen^{NE} e um controle (0 g kg⁻¹), sem adição do produto. A) Peso final (g). B) Fator de conversão alimentar (FCR). C) Taxa de crescimento específico (TCE%). D) Produtividade (kg m⁻¹).....25
- Figura 2 – Contagem total de bactérias heterotróficas e contagem de *Vibrio* spp.do intestino de *Penaeus vannamei* alimentados por seis semanas com dietas contendo 0,5, 1 e 2g kg⁻¹ de Viligen^{NE} e um controle (0 g kg⁻¹), sem adição do produto. A) Contagem total de bactérias heterotróficas. B) Contagem de *Vibrio* spp. Unidades formadoras de colônia (CFU mL⁻¹ g⁻¹ em Log₁₀).....26
- Figura 3 – Mortalidade cumulativa de pós-larvas de *Penaeus vannamei* alimentados por seis semanas com dietas contendo 0,5, 1 e 2g kg⁻¹ de Viligen^{NE} e um controle (0 g kg⁻¹), sem adição do produto durante 48 horas após serem submetidas a desafio de choque térmico.....27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulação da dieta experimental contendo 0,5, 1 e 2 g kg ⁻¹ de Viligen ^{NE} e a dieta controle (0 g kg ⁻¹), sem adição do produto	21
Tabela 2 – Variáveis físico-químicas da água nos tanques de berçário de <i>Penaeus vannamei</i> em sistema de bioflocos, alimentados por seis semanas com dietas contendo 0,5, 1 e 2 g kg ⁻¹ de Viligen ^{NE} e um controle (0 g kg ⁻¹), sem adição do produto	24
Tabela 3 – Parâmetros zootécnicos no berçário de <i>Penaeus vannamei</i> em sistema de bioflocos, alimentados por seis semanas com dietas contendo 0,5, 1 e 2 g kg ⁻¹ de Viligen ^{NE} e um controle (0 g kg ⁻¹), sem adição do produto	25

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	10
1.1	OBJETIVOS	14
1.1.1	Objetivo Geral.....	14
1.1.2	Objetivos Específicos.....	15
1.2	FORMATAÇÃO DO TRABALHO	15
2	ARTIGO CIENTÍFICO	16
2.1	INTRODUÇÃO.....	18
2.2	METODOLOGIA	20
2.2.1	Animais	20
2.2.2	Preparo das dietas experimentais	20
2.2.3	Delineamento experimental.....	21
2.2.4	Análise da microbiota intestinal	22
2.2.5	Resistência ao choque térmico	22
2.2.6	Análise estatística.....	23
2.3	RESULTADOS.....	23
2.3.1	Parâmetros de qualidade de água	23
2.3.2	Desempenho zootécnico.....	24
2.3.3	Microbiologia do trato intestinal.....	25
2.3.4	Resistência ao choque térmico	26
2.4	DISCUSSÃO	27
2.5	CONCLUSÃO	29
	REFERÊNCIAS	30
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	33
	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	34

1 INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura é o setor de produção de alimentos que mais cresce atualmente, e manteve essa tendência de expansão em 2020 mesmo em meio à disseminação mundial da pandemia da COVID-19, embora com diferenças entre regiões e países produtores. Dentre os segmentos da aquicultura, a carcinicultura tem uma parcela importante em termos de produção e movimentação financeira. No que diz respeito às espécies de peneídeos produzidos, destaca-se o cultivo do camarão-branco-do-pacífico *Penaeus vannamei*, que corresponde a 51,7% da produção mundial de crustáceos (FAO, 2022).

Em relação à produção e segurança alimentar atuais, há um foco crescente nos alimentos aquáticos, pois seguindo os apelos para dietas ambientalmente sustentáveis, o consumo moderado de peixes e outros alimentos aquáticos foi promovido como parte de uma dieta saudável (FAO, 2022). Com isso, a fim de atender as demandas crescentes dos consumidores, produção segura e sustentável de alimentos, o sistema de bioflocos (BFT) surge como uma alternativa para intensificar eficientemente a produção de maneira ambientalmente amigável (AVNIMELECH, 2015).

Portanto, o BFT é uma das tecnologias mais sustentáveis para o cultivo do camarão, através desse sistema é possível utilizar menores áreas e volumes de água, cultivar longe de regiões costeiras e ter uma maior biossegurança (HARGREAVES, 2006). Além disso, permite o controle dos excessos de compostos nitrogenados, como amônia e nitrito, por meio da sua comunidade microbiana e da formação de aglomerados de algas, bactérias, protozoários e matéria orgânica particulada, como restos de alimento e fezes (MARTÍNEZ-CÓRDOVA *et al.*, 2015). Para o bom funcionamento desse sistema, é necessário: o controle da relação entre carbono e nitrogênio (C:N) para manutenção da qualidade de água; a ração para alimentar os animais; carbono inorgânico para correção da alcalinidade; e aeração e oxigenação constantes para manter os flocos em suspensão (BROWDY *et al.*, 2012). Adotando essas medidas adequadas, é possível ter um sistema com biossegurança, estável e com alta densidade de estocagem.

No cultivo de camarões, a fase de berçário é a etapa intermediária entre a larvicultura e a engorda. Essa fase tem o objetivo de aclimatar as pós-larvas às condições praticadas na fase de engorda, obter uma maior biossegurança, maior

produtividade e um melhor controle do manejo nesta fase inicial de cultivo (WASIELESKY *et al.*, 2013). Dentre os diferentes sistemas que podem ser empregados nessa fase de cultivo dos crustáceos, destaca-se o sistema de bioflocos, pois possibilita manter bons índices de qualidade da água (XU *et al.*, 2012). Além disso, algumas pesquisas mostram a importância do sistema de bioflocos em fases iniciais de cultivos, proporcionando além de um ambiente mais seguro, um melhor potencial de crescimento e sanidade, levando a resultados positivos no desempenho zootécnico dos animais na fase posterior, isto é, na engorda (KRUMMENAUER *et al.* 2010; WASIELESKY *et al.* 2013; LORENZO *et al.* 2016).

Apesar das suas diversas características positivas, o sistema de bioflocos por ser um sistema com alta densidade de estocagem e de matéria orgânica, precisa estar muito bem equilibrado para evitar consequências negativas, como multiplicação de bactérias patogênicas que podem causar prejuízos tanto para a comunidade microbiana do sistema quanto intestinal dos animais. As bactérias do gênero *Vibrio* são típicas do ambiente marinho e estuarino e fazem parte da microbiota natural dos camarões (LIU *et al.*, 2009). Porém, onze espécies de *Vibrio* spp. são relatadas como patogênicas para o camarão (KLONGKLAEW *et al.*, 2020; TEPAAMORNDECH *et al.*, 2019). Um destes é o *Vibrio parahaemolyticus*, conhecido por ser o agente etiológico da doença da necrose hepatopancreática aguda (AHPND, *acute hepatopancreatic necrosis disease*) que pode levar a mortalidade total dos camarões no primeiro mês de estocagem (BOYD; PHU, 2018). Portanto, podem representar risco ao cultivo quando o camarão apresenta sinais de estresse e/ou está com a capacidade imune comprometida.

Como exemplo de estresse, pode-se destacar a variação brusca de temperatura que constitui um dos fatores físicos que podem afetar os organismos ectotérmicos aquáticos, como os camarões (REN *et al.*, 2021). No sul do Brasil, com a chegada das frentes frias durante o inverno, as alterações nos fatores ambientais podem levar a imunossupressão dos camarões cultivados, especialmente para aqueles produzidos em ambientes abertos, e assim aumentar a suscetibilidade às enfermidades (REVERTER *et al.*, 2014).

Tradicionalmente na aquicultura, o controle de bactérias nocivas dependia do uso de antibióticos. Porém, seu uso em excesso e indiscriminado pode resultar no desenvolvimento de cepas multirresistentes, deixar resíduos na carne dos animais produzidos e no ambiente aquático (VATSOS; REBOURS, 2015). Essa resistência

pode ser transferida para outras linhagens, sendo ainda mais provável na cultura de camarões peneídeos (BROWN, 1989). Dessa forma, é crescente a busca por métodos e/ou substâncias alternativas de inibição de patógenos dentro dos sistemas de produção aquícola, principalmente os preventivos, para controlar possíveis patógenos. Dentre as substâncias que podem ser adotadas, nesse sentido, cita-se os aditivos alimentares.

Segundo a Instrução Normativa número 13 de 30 de novembro de 2004, publicada no Diário Oficial da União, que regulamenta o uso de aditivos destinados à alimentação animal, a definição de aditivo alimentar é:

Substâncias, microrganismos ou produto formulado adicionados intencionalmente, que normalmente não é utilizada como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo, que afetem ou melhorem as características do produto destinado à alimentação animal ou dos produtos animais, que beneficie o desempenho de animais saudáveis e atenda às necessidades nutricionais ou apresente efeito "anticoccidiano" (MAPA, 2004).

De acordo com a referida instrução normativa, os aditivos podem ser classificados conforme suas funções e/ou propriedade em substâncias: nutricionais, sensoriais, tecnológicas, zootécnicas, digestivas, equilibradoras de flora e melhoradoras de desempenho produtivo (MAPA, 2004).

Inúmeros aditivos ou suplementos alimentares são adicionados em rações e/ou água para os mais variados organismos aquícolas. Dentre eles, podem-se destacar os ácidos orgânicos e/ou seu sal, leveduras e minerais como o zinco que pertencem à classificação de aditivo zootécnico e atuam nos três grupos funcionais, ou seja, são substâncias digestivas, equilibradoras da flora e melhoradoras de desempenho (ENCARNAÇÃO, 2010; MAPA, 2004).

Nesse sentido, os acidificantes são substâncias compostas por ácidos orgânicos e inorgânicos, os quais são utilizados como antimicrobianos na indústria de ração animal (DEFOIRDT *et al.*, 2009). Os ácidos orgânicos são substâncias que contêm uma ou mais carboxilas em sua molécula, gerando compostos derivados dos ácidos carboxílicos, como aminoácidos, ácidos graxos, coenzimas e outros metabólitos intermediários (SOLOMONS; FRYHLE, 2002). Entre os acidificantes, os ácidos orgânicos são os mais utilizados comercialmente, devido ao menor potencial de corrosão e toxicidade, quando comparados aos ácidos inorgânicos (HERMES, 2011). A ação antimicrobiana primordial dos ácidos orgânicos no trato intestinal dos organismos é feita pela acidificação do pH no citoplasma das células bacterianas,

através da capacidade destes compostos em dissociar-se e liberar íons de hidrogênio (H⁺). Assim, o pH citoplasmático é alterado, inibindo as bactérias que são sensíveis a estas mudanças, ocorrendo então a redução das bactérias patogênicas dentro do trato intestinal do animal hospedeiro, e como benefício há o aumento da resistência do organismo, suplementado com essa substância, às doenças (CORRÊA, 2017). Trabalhos recentes mostram os benefícios dos ácidos orgânicos em aumentar a sobrevivência, crescimento, digestibilidade de nutrientes e redução de patógenos em camarões (SILVA *et al.*, 2013, 2016; KHALIL *et al.*, 2014; CHUCHIRD *et al.* 2015, ROMANO *et al.*, 2015). Dos ácidos graxos de cadeia curta, o butirato tem recebido atenção especial devido aos seus inúmeros efeitos positivos (MATIS *et al.*, 2013). Em camarões *Penaeus vannamei*, o uso de butirato beneficiou o crescimento, a atratividade do alimento e consumo de ração, bem como o incremento na digestibilidade de nutrientes e a sobrevivência. (SILVA *et al.*, 2013, 2016).

As leveduras, por sua vez, são microrganismos eucarióticos unicelulares, pertencentes ao reino Fungi, sendo a maioria da classe das Ascomycetes e Basidiomycetes. São utilizadas mundialmente na fabricação de produtos alimentícios fermentados, como: ingredientes melhoradores do sabor, aroma e textura; no enriquecimento nutricional de alimentos e bebidas; bem como também na redução de toxinas e compostos antinutricionais (RAI; PANDEY; SAHOO, 2019). As leveduras são fontes de substâncias, como: β -glucanas (β G), mananoligossacarídeos (MOS), ácidos nucleicos e quitina (SHEIKHZADEH *et al.*, 2012), caracterizando-as como um alimento funcional e eficaz, capaz de melhorar o estado imunológico e a saúde dos animais (SIWICKI; ANDERSON; RUMSEY, 1994). Em estudos feitos com a tilápia-do-nilo, a suplementação dietética de leveduras na forma hidrolisada beneficiou o crescimento em termos de ganho em peso e eficiência alimentar (CHEN *et al.*, 2019; TIMOTHÉE ANDRIAMIALINIRINA *et al.*, 2020). Além disso, a suplementação de levedura hidrolisada para tilápia também aumentou as dobras na mucosa, submucosa e vilosidades do intestino (CHEN *et al.*, 2019), o que pode estar associado a maior eficiência na absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, melhor crescimento. Adicionalmente, ao avaliar um bioproduto composto por farinha de bioflocos e levedura *Saccharomyces cerevisiae* e sua aplicação na alimentação de pós-larvas do camarão marinho *Penaeus vannamei* como ingrediente substituto à farinha de peixe, constatou-se a possibilidade da substituição da farinha de peixe pelo bioproduto em até 50% sem que haja comprometimento na absorção dos nutrientes e sem causar

qualquer alteração negativa no crescimento e sobrevivência de pós-larvas do *P. vannamei* (FERREIRA, 2018). Em outro estudo com pós-larvas de *P. vannamei*, a suplementação com a levedura marinha *Meyerozyma guilliermondii* em sistema superintensivo de bioflocos diminuiu a quantidade de sólidos gerados nos sistemas de fertilização e aumentou a sobrevivência dos camarões (FERREIRA, 2017).

Por fim, no que diz respeito aos aditivos alimentares minerais, o zinco (Zn) é um metal leve, de cor azulada, sendo um cátion bivalente (MCDOWELL, 2003), e está envolvido em inúmeras vias metabólicas (TAN; MAI, 2001), por ser um cofator indispensável em inúmeras reações enzimáticas, incluindo a síntese e a degradação de proteínas e lipídios (VALLEE; FALCHUK, 1993). Ademais, o zinco desempenha um papel vital no desenvolvimento e funcionamento do intestino, por meio da participação na proliferação, renovação e reparo das células epiteliais, mantendo assim, a correta estrutura e função da barreira intestinal (HU *et al.*, 2013). Em estudos com animais, a suplementação de zinco é amplamente usada para melhorar o desempenho, diminuir a permeabilidade e aliviar a inflamação intestinal (ZHANG *et al.*, 2012; ZHANG; GUO, 2009). No sistema imunológico, o zinco tem importância crucial, pois a leve deficiência resulta em defeitos generalizados na imunidade inata e adaptativa na maioria dos animais (KEHL-FIE; SKAAR, 2010). Há relatos que as fontes orgânicas de zinco, como o proteinato de zinco, favorecem o crescimento, o sistema imunológico e antioxidante quando suplementadas em dietas para peixes e camarões (LIN *et al.*, 2013; PARIPATANANONT; LOVELL, 1995).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o uso do Viligen^{NE} como aditivo alimentar para o camarão-branco-do-pacífico em diferentes concentrações, cultivado em sistema de bioflocos durante a fase de berçário.

1.1.2 Objetivos Específicos

a) Determinar os efeitos da suplementação dietética de diferentes concentrações do Viligen^{NE} o para o camarão-branco-do-pacífico sobre os parâmetros zootécnicos de produção: sobrevivência, taxa de crescimento, taxa de conversão alimentar e taxa de crescimento semanal.

b) Avaliar os efeitos da suplementação dietética de diferentes concentrações do Viligen^{NE} o para o camarão-branco-do-pacífico sobre a microbiota intestinal (*Vibrio* spp. e bactérias heterotróficas totais) e resistência ao choque térmico.

1.2 FORMATAÇÃO DO TRABALHO

A presente monografia está dividida em dois capítulos: o primeiro constitui-se na introdução geral; e o segundo refere-se ao artigo científico redigido de acordo com as normas da ABNT, o qual será submetido à revista *Aquaculture Internacional*.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

AVALIAÇÃO DE VILIGEN^{NE} COMO ADITIVO ALIMENTAR PARA O CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO CULTIVADO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS DURANTE A FASE DE BERÇÁRIO

Camilla Souza Miranda, Ivanilson de Lima Santos, Ramon Felipe Siqueira Carneiro, Isabela Claudiana Pinheiro, Norha Constanza Bolívar, Scheila Anelise Pereira Dutra, Felipe Vieira do Nascimento

RESUMO

O objetivo deste trabalho é avaliar o Viligen^{NE} (Alltech®, EUA), composto por butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco como aditivo alimentar para *Penaeus vannamei*, cultivado em sistema de bioflocos, na fase de berçário, sobre os parâmetros zootécnicos, microbiológicos e resistência ao choque térmico. Para isso, os camarões foram alimentados por seis semanas com quatro dietas experimentais: a) 0,5 g kg⁻¹; b) 1 g kg⁻¹; c) 2 g kg⁻¹; d) controle (0 g kg⁻¹). O experimento foi realizado em quadruplicata, totalizando 16 unidades experimentais a uma densidade de estocagem de 2000 pós-larvas m⁻³. Os parâmetros de qualidade de água e análises microbiológicas foram feitas por meio de ANOVA unifatorial, seguida do teste de Tukey. Os dados zootécnicos foram avaliados por regressão polinomial e a sobrevivência ao choque térmico por Kaplan-Meier. Os resultados obtidos demonstraram que a suplementação do Viligen^{NE} não afetou a contagem de bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp. no intestino e a mortalidade após o choque térmico. No entanto, os parâmetros zootécnicos dos camarões, foram influenciados positivamente quando suplementados com doses crescentes do Viligen^{NE} de 0,5 e 1g kg⁻¹ proporcionando maior peso final e taxa de crescimento específico. Portanto, a adição de 0,5 e 1g kg⁻¹ de Viligen^{NE} na dieta melhorou o desempenho zootécnico dos camarões na fase de berçário cultivados em bioflocos. Além disso, através da regressão polinomial, estimou-se o nível ótimo de inclusão em 1,17 g kg⁻¹ de Viligen^{NE} para a maior resposta, em termos de peso final e taxa de crescimento específico.

Palavras-chave: *Penaeus vannamei*; parâmetros zootécnicos; choque térmico.

ABSTRACT

The objective of this work is to evaluate Viligen^{NE} (Alltech®, USA), composed of sodium butyrate, dehydrated hydrolyzed yeast and zinc proteinate as a food additive for *Penaeus vannamei*, cultivated in a biofloc system, in the nursery phase, on the zootechnical parameters, intestinal microbiota and thermal-shock resistance. For this, the shrimp were fed for six weeks with four experimental diets: a) 0.5 g kg⁻¹; b) 1 g kg⁻¹; c) 2 g kg⁻¹, d) control (0 g kg⁻¹). The experiment was carried out in quadruplicate, totaling 16 experimental units at a stocking density of 2000 post-larvae m⁻³. Water quality parameters and microbiological analyzes were performed using one-way ANOVA, followed by the Tukey test, zootechnical data were evaluated by polynomial regression and survival to thermal shock by Kaplan-Meier. The significance level adopted was 5%. The zootechnical parameters of shrimp were positively influenced when supplemented with increasing doses of Viligen^{NE} of 0.5 and 1g kg⁻¹, providing higher final weight and specific growth rate. However, Viligen^{NE} supplementation did not affect total heterotrophic bacteria count and *Vibrio* spp. in the intestine and mortality after heat shock. Thus, the addition of 0.5 and 1g kg⁻¹ of Viligen^{NE} in the diet improved the zootechnical performance of shrimp in the nursery stage grown in bioflocs. Through polynomial regression, the optimal inclusion level of 1.17 g kg⁻¹ of Viligen^{NE} was estimated for the highest response, in terms of final weight and specific growth rate.

Keywords: *Penaeus vannamei*; zootechnical parameters; thermal shock.

2.1 INTRODUÇÃO

O sistema de bioflocos é considerado uma das tecnologias mais sustentáveis desenvolvidas para o cultivo do camarão. Nesse sistema é possível controlar o excesso de compostos nitrogenados, como amônia e nitrito, por meio da comunidade microbiana e da formação de aglomerados constituídos por microalgas, protozoários, bactérias, leveduras e detritos orgânicos e inorgânicos, os quais são denominados bioflocos (AVNIMELECH 2014; DE SCHRYVER *et al.* 2008). Além disso, o cultivo pode ser realizado em: áreas menores, longe de regiões costeiras; utilizando menor volume de água, com maior biossegurança (HARGREAVES 2006); e permitindo alta densidade de estocagem e entrada de matéria orgânica mantidos com o auxílio de alta aeração (BROWDY *et al.* 2001).

O berçário é a fase que compreende a etapa intermediária entre a larvicultura e a engorda com o objetivo de aclimatar as pós-larvas às condições praticadas na fase de engorda. Alguns estudos demonstram a importância do sistema de bioflocos em fases iniciais de cultivos, resultando em um ambiente mais controlado e seguro para o crescimento dos camarões. Esse ambiente, potencializa, tanto o crescimento quanto a sanidade dos animais, promovendo por consequência a melhoria no desempenho zootécnico dos camarões na fase de engorda (KRUMMENAUER *et al.* 2010; WASIELESKY *et al.* 2013; LORENZO *et al.* 2016). Além disso, o sistema de bioflocos aliado à fase de berçário dos camarões, pode auxiliar também na manutenção de bons parâmetros de qualidade da água, mesmo sem renovações, nos sistemas de criação (XU *et al.* 2012).

Apesar do sistema de cultivo em bioflocos possuir diversas características positivas, ainda há alguns entraves. Por ser um sistema com alta densidade de estocagem e de matéria orgânica, precisa estar muito bem equilibrado e dimensionado para não trazer consequências negativas, como por exemplo: a multiplicação de bactérias patogênicas. As bactérias do gênero *Vibrio* são típicas do ambiente marinho e estuarino, além de fazerem parte da microbiota natural dos camarões (LIGHTNER 1996; LIU *et al.* 2011). Porém, podem representar risco ao cultivo, sobretudo, quando o camarão apresenta sinais de estresse ou capacidade imune comprometida. Esse estresse pode estar relacionado ao tratamento inadequado da água de cultivo, à redução dos níveis nutricionais e às variações de temperatura.

Tradicionalmente, o controle de bactérias nocivas dependia exclusivamente do uso de antibióticos. Porém, o excesso e o uso indiscriminado desses antimicrobianos pode resultar no desenvolvimento de cepas de bactérias resistentes, além de deixar resíduos na água e carne do animal produzido (WESTON 1996). Dessa forma, diversos métodos alternativos são estudados, principalmente os preventivos, para controlar possíveis patógenos e melhorar o quadro geral de saúde dos camarões. Dentre as alternativas, cita-se os aditivos alimentares como butirato de sódio, levedura hidrolisada e proteinato de zinco.

Em relação aos aditivos alimentares comercializados, o Viligen^{NE} (Alltech®, EUA), vem atuando como: melhorador de desempenho produtivo, da saúde geral, do sistema imunológico e da integridade intestinal, bem como, equilibrador da microbiota intestinal. Este produto é composto principalmente por ácido orgânico, o butirato de sódio; levedura hidrolisada desidratada, que é rica em polissacarídeos e nucleotídeos; e mineral quelado, o proteinato de zinco.

Em camarões *Penaeus vannamei*, o uso de butirato comprovadamente beneficiou o crescimento, a atratividade ao alimento e consumo de ração, bem como o incremento na digestibilidade de nutrientes e a sobrevivência. (SILVA *et al.* 2013, 2016). Em outro estudo com pós-larvas de *P. vannamei*, a suplementação com a levedura marinha *Meyerozyma guilliermondii* em sistema superintensivo de bioflocos propiciou a diminuição da quantidade de sólidos gerados nos sistemas de fertilização e maior sobrevivência dos camarões (FERREIRA, 2017). Já o proteinato de zinco, favoreceu o crescimento e o sistema imunológico quando suplementadas em dietas para camarões (LIN *et al.*, 2013).

Diante do exposto, fica evidente o potencial que cada aditivo alimentar, utilizados separadamente, tem sobre o desempenho zootécnico do camarão *P. vannamei*, criados tanto em regime de água clara quanto em sistema de bioflocos. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do Viligen^{NE} composto de um mix de aditivos alimentares (butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco) em três concentrações (0,5, 1 e 2 g kg⁻¹) e controle (0g kg⁻¹), sobre os parâmetros zootécnicos, microbiota intestinal e resistência ao choque térmico do camarão-branco-do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos durante a fase de berçário.

2.2 METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Camarões Marinho (LCM) e a fabricação das dietas foi realizada no Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas (LABNUTRI), ambos pertencentes à Universidade Federal de Santa Catarina, localizado em Florianópolis – SC (Brasil).

2.2.1 Animais

Foram utilizadas pós-larvas (PL20) da espécie *Penaeus vannamei* provenientes do laboratório comercial Aquatec, aclimatadas no LCM/UFSC em sistema de bioflocos até atingirem peso aproximado de 41 mg.

2.2.2 Preparo das dietas experimentais

As dietas foram formuladas com o auxílio do software Optimal Fórmula 2000®, baseado nas recomendações e exigências nutricionais para *P. vannamei* (GONG et al., 2000; NRC, 2011; ZHOU et al., 2012). Os ingredientes secos foram previamente triturados e peneirados a 600 µm. Posteriormente, os microingredientes foram homogeneizados e em seguida adicionados aos macroingredientes. Sucessivamente foram acrescentados os óleos, a lecitina de soja e água. A mistura resultante foi peletizada em uma microextrusora (Inbramaq MX-40), seca em estufa a 40°C e posteriormente a ração foi refrigerada a 4°C até a sua utilização. A composição centesimal da ração foi analisada de acordo com o descrito por AOAC (1999) e os ingredientes utilizados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Formulação da dieta experimental contendo 0,5, 1 e 2 g kg⁻¹ de Viligen^{NE} e a dieta controle 0 g kg⁻¹, sem adição do produto.

Ingredientes	Quantidade em g kg ⁻¹ de adição de Viligen			
	0	0,5	1,0	2,0
Farinha de trigo	10,00	10,00	10,00	10,00
Farelo de soja	35,00	35,00	35,00	35,00
Farinha de peixe	20,00	20,00	20,00	20,00
Farinha de vísceras de aves	8,00	8,00	8,00	8,00
Carboximetilcelulose	0,50	0,50	0,50	0,50
Lecitina de soja	2,00	2,00	2,00	2,00
Fosfato monocalcico	2,50	2,50	2,50	2,50
Óleo de soja	0,50	0,50	0,50	0,50
Vitamina C	0,07	0,07	0,07	0,07
Premix vitamínico	0,40	0,40	0,40	0,40
Premix mineral	1,70	1,70	1,70	1,70
Sulfato de magnésio	1,50	1,50	1,50	1,50
Caulim	8,00	7,50	7,00	6,00
Cloreto de sódio	1,00	1,00	1,00	1,00
Subproduto de salmão	5,13	5,13	5,13	5,13
Cloreto de potássio	1,00	1,00	1,00	1,00
Metionina	0,20	0,20	0,20	0,20
Óleo de peixe	2,50	2,50	2,50	2,50
Viligen^{NE}	0,00	0,05	0,10	0,20
Composição centesimal (g kg⁻¹)				
Matéria seca (%)	96,08	93,60	90,65	94,35
Proteína bruta (%)	38,65	37,86	36,77	38,70
Lípídeo bruto (%)	9,83	7,10	8,39	7,49
Minerais (%)	23,83	24,46	22,03	22,82
Energia bruta (cal/g)	4173,06	3994,05	3878,92	3934,40

* Todos os resultados estão expressos na matéria natural do produto.

** As análises de caracterização físico-química foram realizadas de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (1999): Matéria seca pelo método 950.01; Matéria Mineral pelo método 942.05; Proteína por LECO método Dumas 990.03, fator de conversão 6,25; Extrato etéreo por Soxhlet pelo método 920.39C. A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica.

2.2.3 Delineamento experimental

O experimento teve duração de seis semanas e para a avaliação do Viligen^{NE}, os camarões foram separados em quatro grupos experimentais, isto é, dieta suplementada com 0,5, 1 ou 2 g kg⁻¹ e dieta não suplementada (controle 0 g kg⁻¹), em quadruplicata, resultando em 16 unidades experimentais. Cada tratamento (0, 0,5, 1 e 2 g kg⁻¹) consistiu em 4 unidades experimentais de 48 L cada, povoado com 96 animais, o que corresponde a uma densidade de estocagem de 2000 pós-larvas m⁻³.

Cada tanque foi equipado com sistema de aquecimento de água (temperatura de $28,1 \pm 0,9$ °C) e aeração por tubo perfurado ($O_2 > 5$ mg L⁻¹). A água dos tanques era proveniente de um inóculo com 30% de um tanque matriz para cultivo de camarões em sistema de bioflocos maduros, ou seja, com nitrificação já estabelecida, apresentando: $0,15 \pm 0,0$ mg mL⁻¹ de amônia; $0,08 \pm 0,0$ mg mL⁻¹ de nitrito; $170 \pm 0,0$ mg CaCO₃ mL⁻¹; $484 \pm 0,0$ mg mL⁻¹ de sólidos suspensos totais. Oxigênio dissolvido e temperatura foram monitorados diariamente. As concentrações de amônia total e nitrito, salinidade, pH e sólidos suspensos totais (SST) foram monitorados semanalmente. Durante seis semanas de cultivo, os camarões foram alimentados segundo a tabela de alimentação de Van Wyk, seis vezes por dia (8h, 9h30min, 11h30min, 13h30min, 15h e às 17h). Semanalmente 20 animais por tanque foram pesados para monitoramento do crescimento e ajuste da quantidade de ração fornecida. Ao final do experimento, foram avaliados como parâmetros zootécnicos: sobrevivência, peso final, taxa de crescimento específico, produtividade e conversão alimentar dos animais.

2.2.4 Análise da microbiota intestinal

Foram amostrados intestinos de 10 camarões por unidade experimental, totalizando 40 camarões por tratamento. Os tratos intestinais foram homogeneizados em gral e diluídos serialmente (1/10) em solução salina estéril 3% e semeados em meio de cultura Ágar Marinho e TCBS para contagem de bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp., respectivamente. Não houve filtragem dos intestinos antes da diluição. Os intestinos semeados nas placas de Petri foram incubados em estufa a 30°C durante 24 horas e, posteriormente, efetuadas contagens totais de unidades formadoras de colônias (UFC mL⁻¹g⁻¹ de intestino). No dia da coleta os camarões não foram alimentados.

2.2.5 Resistência ao choque térmico

Para o desafio de choque térmico, após o período de seis semanas, 15 camarões de cada unidade experimental foram transferidos dos tanques de cultivo

(com água a $28,1 \pm 0,9^\circ\text{C}$) para aquários de 60 L contendo água salgada a $13,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (temperatura estabelecida previamente em um ensaio de temperatura letal de 50%), onde foram mantidos por uma hora. A temperatura da água dos aquários foi monitorada constantemente durante todo o período. Posteriormente, os animais foram transferidos simultaneamente para recipientes contendo água a 28°C . A sobrevivência foi avaliada durante 48 horas, até a estabilização da mortalidade. Os camarões não foram alimentados durante todo o período do teste.

2.2.6 Análise estatística

Parâmetros de qualidade de água e análises microbiológicas foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Levene para verificar a normalidade e homocedasticidade, respectivamente. Após os pressupostos garantidos, esses dados foram submetidos à ANOVA unifatorial, seguida do teste de Tukey quando necessário. Além disso, os dados zootécnicos foram avaliados por regressão polinomial de grau dois. A sobrevivência ao choque térmico foi analisada com o teste de sobrevivência de Kaplan-Meier. O nível de significância adotado em todos os testes foi de 5%.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Parâmetros de qualidade de água

A temperatura e o oxigênio dissolvido foram mantidos em $28,12 \pm 0,97^\circ\text{C}$ e $6,27 \pm 0,26\text{ mg L}^{-1}$ respectivamente, e permaneceram constantes ao longo de todo o experimento. Não houve diferença estatística entre os tratamentos para alcalinidade, pH, sólidos suspensos totais e nitrato. A amônia e o nitrito foram estatisticamente diferentes entre os tratamentos, entretanto essas diferenças não afetaram o desempenho zootécnico dos animais, onde se mantiveram dentro dos limites aceitáveis para o cultivo do camarão-branco-do-pacífico em bioflocos.

Tabela 2. Variáveis físico-químicas da água nos tanques de berçário de *Penaeus vannamei* em sistema de bioflocos, alimentados por seis semanas com dietas contendo 0,5; 1 e 2 g kg⁻¹ de Viligen NE e uma controle (0 g kg⁻¹), sem adição do produto.*

Tratamentos	Amônia (mg L ⁻¹)	Nitrito N-NO ₂ (mg L ⁻¹)	Nitrato N-NO ₃ (mg L ⁻¹)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	pH	SST (mg L ⁻¹)
Controle	0,68±0,88 ^a	0,09±0,03 ^b	70,43±24,89	163,67±19,31	7,97±0,10	613,26±255,54
0,5g kg⁻¹	0,66±0,95 ^a	0,12±0,08 ^b	64,25±47,52	168,10±19,05	7,96±0,09	601,60±266,09
1g kg⁻¹	0,29±0,17 ^b	0,14±0,07 ^b	72,44±54,25	165,25±14,83	7,95±0,10	584,90±264,54
2g kg⁻¹	0,30±0,19 ^b	0,20±0,18 ^a	79,42±67,24	164,83±16,11	7,95±0,10	567,08±285,75
p-valor**	0,000	0,000	0,961	0,642	0,573	0,812

* Dados apresentados em médios ± desvio padrão. **ANOVA unifatorial. SST – sólidos suspensos totais.

2.3.2 Desempenho zootécnico

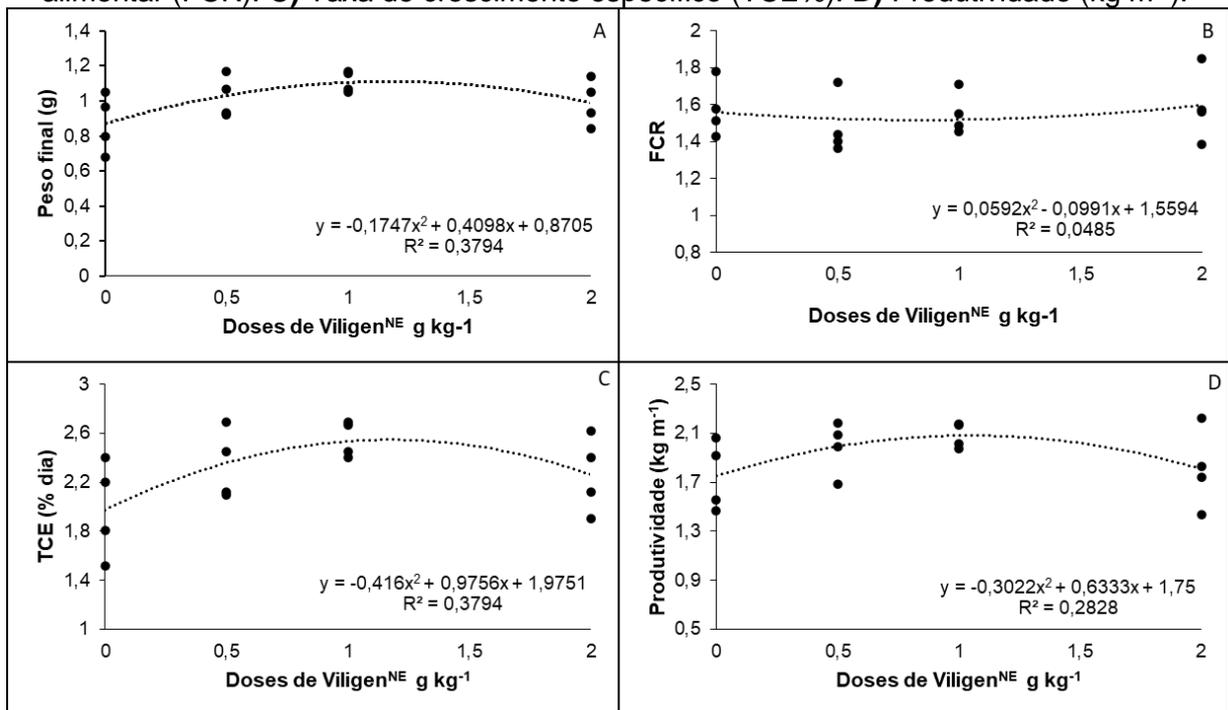
Após o período de seis semanas, a inclusão de Viligen^{NE} resultou em um efeito quadrático para peso final, produtividade, taxa de crescimento específico e fator de conversão alimentar (Tabela 3). O peso final dos tratamentos com 0,5 e 1g kg⁻¹ de suplementação de Viligen^{NE} foram superiores ao tratamento com 2g kg⁻¹ e o controle. Além disso, a taxa de crescimento específico (TCE % dia) foi superior no tratamento com adição de 1 g kg⁻¹. Já o fator de conversão alimentar apresentou o melhor resultado quando suplementado com 0,5 g kg⁻¹ de Viligen^{NE}. Através da regressão polinomial, estimou-se o nível ótimo de inclusão em 1,17 g kg⁻¹ de Viligen^{NE} para a maior resposta, em termos de peso final (Figura 1A) e taxa de crescimento específico (Figura 1B).

Tabela 3. Parâmetros zootécnicos no berçário de *Penaeus vannamei* em sistema de bioflocos, alimentados por seis semanas com dietas contendo 0,5; 1 e 2 g kg⁻¹ de Viligen^{NE} e uma controle (0 g kg⁻¹), sem adição do produto.*

Variáveis	Suplementação de Viligen ^{NE} g kg ⁻¹				Valor regressão	
	0	0,5	1	2	R ²	p
Peso final (g)	0,87±0,17	1,02 ± 0,12	1,11±0,06	0,99 ±0,13	0,3794	0,045
Produtividade (kg m ³)	1,75±0,28	1,99±0,21	2,08±0,10	1,81±0,32	0,2828	0,115
Taxa crescimento específico (%)	1,98±0,39	2,34±0,29	2,55±0,15	2,26±0,31	0,3794	0,045
Fator de conversão alimentar	1,58±0,15	1,48±0,16	1,55±0,12	1,59±0,19	0,0485	0,724
Sobrevivência (%)	97 ±0,03	95 ±0,03	95 ±0,03	94 ±0,05	0,1002	0,503

*Dados apresentados em médias ± desvio padrão.

Figura 1. Desempenho zootécnico do camarão *Penaeus vannamei* criado em sistema de bioflocos, alimentados por seis semanas com dietas contendo 0,5; 1 e 2g kg⁻¹ de Viligen^{NE} e uma controle (0 g kg⁻¹), sem adição do produto. **A)** Peso final (g). **B)** Fator de conversão alimentar (FCR). **C)** Taxa de crescimento específico (TCE%). **D)** Produtividade (kg m⁻¹).

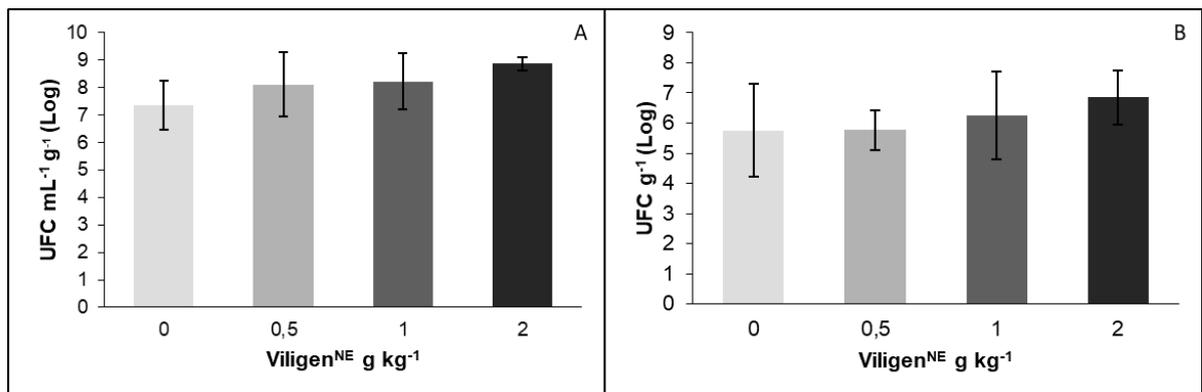


2.3.3 Microbiologia do trato intestinal

Não foi observada diferença significativa entre os grupos experimentais para a contagem total de bactérias heterotróficas ($p=0,182$) e *Vibrio* spp. ($p=0,549$) do

intestino dos camarões alimentados por seis semanas com dieta não suplementada ou suplementada com diferentes concentrações de Viligen^{NE} (Figuras 3A e 3B).

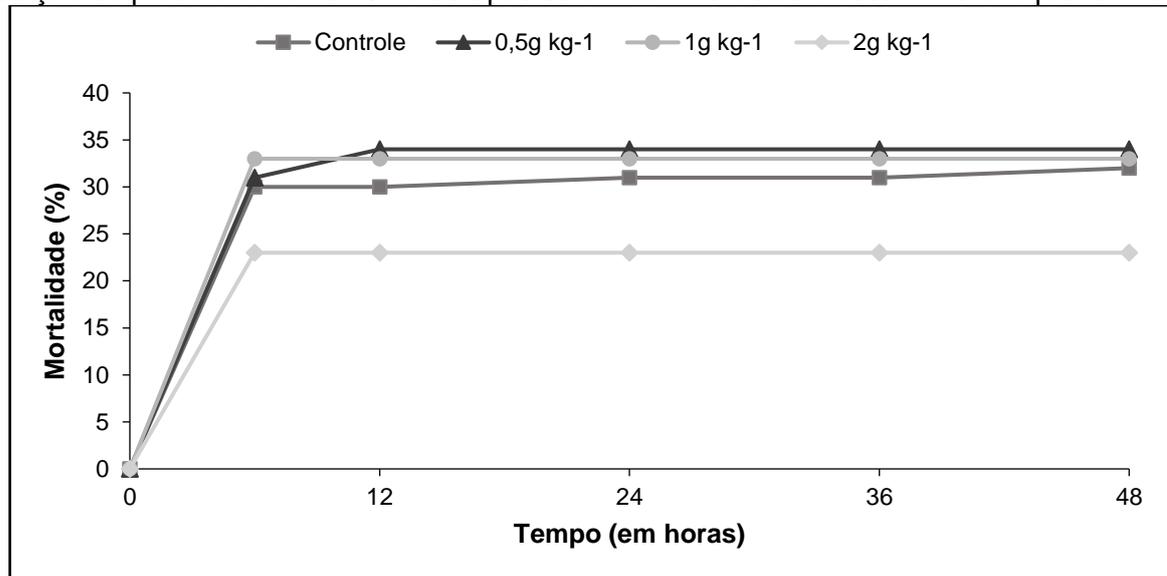
Figura 2. Contagem total de bactérias heterotróficas e contagem de *Vibrio* spp. do intestino de *Penaeus vannamei* alimentados por seis semanas com dietas contendo 0,5; 1 e 2g kg⁻¹ de Viligen^{NE} e uma controle (0 g kg⁻¹), sem adição do produto. **A)** Contagem total de bactérias heterotróficas. **B)** Contagem de *Vibrio* spp. Dados representam unidades formadoras de colônia (CFU mL⁻¹ g⁻¹ em Log¹⁰).



2.3.4 Resistência ao choque térmico

Não foi observada diferença significativa ($p=0,382$) entre os grupos experimentais para a mortalidade de *P. vannamei* durante 48 horas após ser submetido a desafio de choque térmico (Figura 3).

Figura 3. Mortalidade cumulativa de pós-larvas de *Penaeus vannamei* alimentados por seis semanas com dietas contendo 0,5; 1 e 2g kg⁻¹ de Viligen^{NE} e uma controle (0 g kg⁻¹), sem adição do produto durante 48 horas após serem submetidas ao desafio de choque térmico.



2.4 DISCUSSÃO

Este é o primeiro trabalho utilizando Viligen^{NE} como aditivo alimentar para o camarão-branco-do-pacífico. O uso combinado de levedura hidrolisada desidratada, butirato de sódio e proteinato de zinco – componentes deste aditivo alimentar – proporcionou maior peso final e taxa de crescimento específico do camarão quando suplementado em doses crescentes de 0,5 e 1g kg⁻¹ de Viligen^{NE} na dieta. O fator de conversão alimentar apresentou melhor resultado quando suplementado com 0,5 g kg⁻¹ de Viligen^{NE}. Semelhante ao presente trabalho, Silva *et al.* (2016), ao testar apenas sais orgânicos na dieta do *P. vannamei*, apesar de uma dose maior, também observaram um crescimento e eficiência alimentar significativamente maiores para animais suplementados com 20 g kg⁻¹ de butirato de sódio. Agora, ao analisar a suplementação de apenas fontes orgânicas de zinco (Zinco-Lisina, Zinco-Glicina e Zinco-Metionina) para *P. vannamei*, constatou-se que a adição de Zinco-Metionina apresentou os melhores resultados de ganho em peso, além de maior sobrevivência após desafio contra *Vibrio harveyi* (LIN *et al.* 2013). Além disso, no que diz respeito à suplementação de levedura, Jin *et al.* (2018) ao testarem a inclusão de 1% de levedura hidrolisada e 1% de levedura de cerveja na dieta para juvenis de *P. vannamei*, também

verificaram uma melhora no ganho de peso, taxa de crescimento específico e de conversão alimentar nos animais alimentados com 1% de levedura hidrolisada em relação ao grupo controle. Portanto, no presente estudo, o uso combinado dos três compostos pode ter apresentado efeito sinérgico entre si, contribuído ainda mais para melhoria do desempenho zootécnico, especialmente para os camarões suplementados com 0,5 e 1g kg⁻¹ de Viligen^{NE}.

Os componentes do aditivo Viligen^{NE} podem prevenir a oxidação de aminoácidos, melhorar a assimilação de nutrientes e proporcionar uma condição favorável para a melhor utilização de nutrientes na dieta e, conseqüentemente, o crescimento dos camarões (ROBLES *et al.* 2013; VAZQUEZ *et al.* 2006). No entanto, os níveis de suplementação dietética de um dado aditivo podem variar dependendo da espécie, fase de vida, sistema de cultivo e com o tempo de administração. Como, por exemplo, Pessini (2021) ao utilizar ViligenTM (0,60; 1,20; 2,40 e 4,80 g kg⁻¹) em dietas para juvenis de tilápia-do-nylo durante 60 dias, criadas em sistema de água clara, estimaram a dose ideal através da regressão em 2,80 g kg⁻¹ VILIGENTM para maior resposta em ganho de peso diário, enquanto que para juvenis de camarão-branco do pacífico criados em BFT foi estimado em 1,17 g kg⁻¹ de Viligen^{NE} para maior resposta em termos de peso final e taxa de crescimento específico.

Entre os compostos presentes na parede da levedura estão os polissacarídeos, em especial os β -glucanos, que podem atuar estimulando diretamente o crescimento da microbiota comensal (SONG *et al.* 2014). Além disso, o butirato de sódio tem efeitos benéficos nas respostas imunes e na resistência a doenças, assim como é fonte de energia para os enterócitos. Similarmente, o proteinato de zinco, também beneficia o crescimento e a proliferação celular no sistema imunológico. Nesse sentido, doses de 5, 10 e 20 g kg⁻¹ de apenas butirato de sódio foram efetivas em diminuir o crescimento de *Vibrio* sp. no intestino do *P. vannamei*, além de aumentar a aglutinação sérica (SILVA *et al.* 2016). Embora estudos sobre aditivos alimentares mostrarem uma modulação positiva da microbiota intestinal de camarões, no presente estudo, a suplementação com Viligen^{NE} em diferentes concentrações não afetou a contagem de bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp. no intestino dos animais. Isso pode ter ocorrido pelo fato de a concentração ser insuficiente para afetar a microbiota intestinal, pois considerando os três componentes, butirato de sódio, proteinato de zinco e levedura hidrolisada a concentração de cada um deles é consideravelmente menor do que o utilizado por

Silva *et al.* (2016), onde as concentrações apenas de butirato de sódio foram de 5, 10 e 20 g kg⁻¹. Portanto, mais estudos são necessários para determinar a duração e concentração ideal da suplementação dietética com Viligen^{NE} para otimizar a modulação da microbiota intestinal do camarão-branco-do-pacífico.

A temperatura tem influência direta no metabolismo dos crustáceos, produzindo um efeito significativo tanto no crescimento quanto na sobrevivência dos camarões peneídeos. Além disso, o frio pode causar imunossupressão e, conseqüentemente, aumentar a vulnerabilidade a patógenos (GOMEZ-JIMENEZ *et al.* 2000; KAUTSKY *et al.* 2000; WANG e CHEN 2006). Os ácidos orgânicos melhoram a fluidez da membrana celular, resultando em menores taxas de mortalidade, pois a adaptação da homeoviscosidade da membrana é um importante mecanismo de resistência ao frio (HAYWARD; MANSO; COSSINS 2014). Em insetos, crustáceos, microrganismos e plantas resistentes ao frio, a melhora da fluidez da membrana ocorre pelo aumento do grau de insaturação e é um mecanismo comum em diferentes organismos resistentes à variação térmica (CORCOLES-SÁEZ *et al.* 2016; TAKAHASHI *et al.* 2016). Neste estudo, entretanto, não houve diferença significativa na mortalidade cumulativa de camarões após o choque térmico, mesmo após seis semanas de suplementação com o mix de aditivos alimentares (butirato de sódio, proteinato de zinco e levedura hidrolisada). No entanto, mais estudos devem ser conduzidos para entender os mecanismos responsáveis pela resistência às mudanças bruscas de temperatura, e adaptar a suplementação ideal para que possam atuar em conjunto sobre parâmetros zootécnicos, microbiota intestinal e sobrevivência após choque térmico.

2.5 CONCLUSÃO

A adição de 0,5 e 1g kg⁻¹ de Viligen^{NE} na dieta melhorou o desempenho zootécnico dos camarões na fase de berçário cultivados em bioflocos. Através da regressão polinomial, estimou-se o nível ótimo de inclusão em 1,17 g kg⁻¹ de Viligen^{NE} para a melhor resposta, em termos de peso final e taxa de crescimento específico. No entanto, a suplementação com Viligen^{NE} não afetou a contagem de bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp. do intestino e a mortalidade dos camarões após o choque térmico na fase de berçário em bioflocos.

REFERÊNCIAS

- AVNIMELECH, Y. **Biofloc technology – A practical guide book**. 3. ed. Baton Rouge: The World Aquaculture Society, 2015.
- BROWDY, C.L.; BRATFORD, D.; STOKES, A.D.; M, R.P. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In The new wave, In: C.L. Browdy; D.E. Jory (ed.). The new wave. Proceedings of the Special Session on sustainable shrimp farming, **The World Aquaculture Society**, Baton Rouge, p. 20-34, 2001.
- BROWN, J. H. **Antimicrobials: their use and abuse in aquaculture**. World Aquaculture, v. 20, p. 34-43, 1989.
- CÓRCOLES-SÁEZ, I.; HERNÁNDEZ, M.L.; MARTÍNEZ-RIVAS, J.M.; PRIETO, J.A.; RANDEZ-GIL, F. Characterization of the *S. cerevisiae* inp51 mutant links phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate levels with lipid content, membrane fluidity and cold growth. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1861, p. 213-226, 2016.
- DE SCHRYVER, P.; CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W.2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture** 277:125-137.
- ERNZEN PESSINI, JHONIS; DAITX DE OLIVEIRA, VITÓRIA ; SOUZA DE SÁ, LÚVIA ; PEDREIRA MOURIO, JOSÉ LUIZ ; PETTIGREW, JAMES ; MACHADO FRACALLOSSI, DÉBORA . Dietary supplementation of Viligen- to Nile tilapia improves growth and gut morphology. **Aquaculture Nutrition**, v. 27, p. 1065-1076, 2021.
- FERREIRA, Natália Locks. **Estratégias de fertilização e manipulação microbiana no cultivo superintensivo de camarão marinho em sistema do bioflocos**. 2017. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.
- GOMEZ-JIMENEZ, S., UGLOW, R.F., GOLLAS-GALVAN, T., 2000. The effects of cooling and emersion on total haemocyte count and phenoloxidase activity of the spiny lobster *Panulirus interruptus*. **Fish & Shellfish Immunology**, 10, 631-635.
- GONG, H. et al. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei* I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. **Aquaculture**, v. 190, n. 3–4, p. 305– 324, 2000.
- HARGREAVES, J.A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, [S.L.], v. 34, n. 3, p. 344-363, maio 2006. Elsevier BV.
- HAYWARD, S.A.L., MANSO, B., COSSINS, A.R. Molecular basis of chill resistance adaptations in poikilothermic animals. **Journal of Experimental Biology** 217, 6–15, 2014.
- Jin, M., Xiong, J., Zhou, Q.C., Yuan, Y., Wang, X.X., Sun, P., 2018. Dietary yeast hydrolysate and brewer’s yeast supplementation could enhance growth performance,

innate immunity capacity and ammonia nitrogen stress resistance ability of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Fish & Shellfish Immunology**, 82,121–129.

KAUTSKY, N. et al. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. **Aquaculture**, v. 191, n. 1-3, p. 145-161, 2000.

KRUMMENAUER, D.; CAVALLI, R.; BALLESTER, E.; WASIELESKY, W. Feasibility of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* culture in southern Brazil: effects of stocking density and a single or a double crop management strategy in earthen ponds. **Aquaculture Research**, 41: 240-248. 2010.

LIGHTNER, D. V. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. **World Aquaculture Society**, Balton Rouge, Louisiana, 1996.

LIN, S. et al. Comparison of chelated zinc and zinc sulfate as zinc sources for growth and immune response of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, v. 406-407, p. 79-84, ago. 2013. Elsevier BV.

LIU, H. et al. The intestinal microbial diversity of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) as determined by PCR-DGGE and clone library analyses. **Aquaculture**, v. 317, n. 1, p. 32-36, 2011.

LORENZO, M.A.; et al. Intensive hatchery performance of Pacific white shrimp in the biofloc system under three different fertilization levels. **Aquacultural Engineering**, v. 72, p. 40-44, 2016.

NRC - National Research Council. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. Washington, D. C.: The National Academies Press, 2011.

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, 5 jun. 2013.

SILVA, B.C.; VIEIRA, F.N.; MOURIÑO, J.L.P.; FERREIRA, G.S.; SEIFFERT, W.Q. 2013 Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. **Aquaculture**, 384: 104-110.

SILVA, B.C.; VIEIRA, F.N.; MOURIÑO, J.L.P.; RAMÍREZ, N.; SEIFFERT, W.Q. 2016 Butyrate and propionate improve the growth performance of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, 47: 612- 623.

SONG, S. K. et al. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 40, n. 1, p. 40-48, set. 2014. Elsevier BV.

TAKAHASHI, D.; IMAI, H.; KAWAMURA, Y.; UEMURA, M. Lipid profiles of detergent resistant fractions of the plasma membrane in oat and rye in association with cold acclimation and freezing tolerance. **Cryobiology**, v. 72, p. 123-134, 2016.

VAN WYK, P. Nutrition and Feeding of *Litopenaeus vannamei* in Intensive Culture Systems. In: WYK, P. VAN et al. (Eds.). **Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems**. Tallahassee: Harbor Branch Oceanographic Institution, 1999. p. 125–140.

VÁZQUEZ, M.J. et al. Enhancing the potential of oligosaccharides from corncob autohydrolysis as prebiotic food ingredients. **Industrial Crops and Products**, v. 24, n. 2, p. 152-159, set. 2006.

WANG, F.I., CHEN, J.C. The immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* under temperature stress. **Aquaculture** 258, 34-41, 2006.

WASIELESKY, W.; et al. Nursery of *Litopenaeus vannamei* reared in a biofloc system: the effect of stocking densities and compensatory growth. **Journal of Shellfish Research**, v. 32, n. 2, p. 799-806, 2013.

Weston, D.P., 1996. Environmental considerations on the use of antibacterial drugs in aquaculture. In: D.J. Baird, M.C.M. Beveridge, L.A. Kelly and J.F. Muir (eds), **Aquaculture and Water Resource Management**. Institute of Aquaculture, Blackwell Science. p. 140-165.

XU, W.J.; et al. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. **Aquaculture**, v. 350, p. 147-153, 2012.

ZHOU, Q. C. et al. Dietary arginine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 364–365, p. 252–258, 2012.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Através do presente trabalho com a suplementação do aditivo alimentar Viligen^{NE} composto de um mix de aditivos alimentares (butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco), pôde-se analisar as diferentes doses de inclusão na dieta e responder alguns questionamentos. Visto que é o primeiro trabalho utilizando o Viligen^{NE} para o camarão-branco-do-pacífico *Penaeus vannamei* cultivado em bioflocos na fase de berçário. Como os níveis de suplementação de um dado aditivo pode variar dependendo da espécie, fase de vida, sistema de cultivo e com o tempo de administração, mais estudos são necessários para determinar a duração e concentração ideal de suplementação dietética com Viligen^{NE} para otimizar em conjunto os parâmetros zootécnicos, microbiota intestinal e mortalidade após choque térmico.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- AVNIMELECH, Y. **Biofloc technology – A practical guide book**. 3. ed. Baton Rouge: The World Aquaculture Society, 2015.
- BOYD, C. E.; PHU, T. Q. Environmental factors and acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp ponds in Viet Nam: Practices for reducing risks. **Asian Fisheries Science**, v. 31, p. 121–136, 2018.
- CHEN, X. Q. et al. Effects of dietary hydrolyzed yeast (*Rhodotorula mucilaginosa*) on growth performance, immune response, antioxidant capacity and histomorphology of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 90, n. Apr., p. 30–39, 2019.
- DEFOIRD, T. et al. Short-chain fatty acids and poly- β -hydroxyalkanoates: (New) Biocontrol agents for a sustainable animal production. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 6, p. 680–685, 2009.
- ENCARNAÇÃO, Pedro. Varied feed additives improve gut, animal health. **Global aquaculture advocate**, 2010.
- FAO. 2022. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation**. Rome, FAO.
- FERREIRA, Bruna Cáritas Souza do Valle. **Aplicação de um bioproduto composto por bioflocos e levedura na nutrição do camarão marinho *Litopenaeus vannamei***. 2018. 84 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- HARGREAVES, J.A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, [S.L.], v. 34, n. 3, p. 344-363, maio 2006. Elsevier BV.
- HERMES, R. G. Uso de extratos de plantas e acidificantes para suínos, o que diz a ciência e a prática atual. **Engormix**, 2011.
- HU, C. et al. Diosmectite-zinc oxide composite improves intestinal barrier function, modulates expression of pro-inflammatory cytokines and tight junction protein in early weaned pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 110, p. 681–688, 2013.
- KEHL-FIE, T. E.; SKAAR, E. P. Nutritional immunity beyond iron: a role for manganese and zinc. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 14, n. 2, p. 218–224, 2010.
- KLONGKLAEW, N. et al. Antibacterial and antiviral activities of local Thai green macroalgae crude extracts in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Marine Drugs**, v. 18, n. 3, p. 1–23, 2020.
- KRUMMENAUER, D.; CAVALLI, R.; BALLESTER, E.; WASIELESKY, W. Feasibility of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* culture in southern Brazil: effects of stocking density and a single or a double crop management strategy in earthen ponds. **Aquaculture Research**, 41: 240-248. 2010.

LIN, S. et al. Comparison of chelated zinc and zinc sulfate as zinc sources for growth and immune response of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, v. 406–407, p. 79–84, 2013.

LIU, C. et al. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. v. 107, p. 1031–1041, 2009.

LORENZO, M.A.; et al. Intensive hatchery performance of Pacific white shrimp in the biofloc system under three different fertilization levels. **Aquacultural Engineering**, v. 72, p. 40-44, 2016.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA).

Instrução normativa 13 de 30 de novembro de 2004. Disponível em:

<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=133040692>. Acessado em 30 maio de 2023.

MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R. et al. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: an updated review. **Reviews in Aquaculture**, v. 7, n. 2, p. 131–148, 2015.

MÁTIS, G.; et al. Effects of orally applied butyrate bolus on histone acetylation and cytochrome enzyme activity in the liver of chicken-a randomized controlled trial. **Nutrition & Metabolism**, v. 10, p. 10-12, 2013.

PARIPATANANONT, T.; LOVELL, R. T. Chelated zinc reduces the dietary zinc requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 133, n. 1, p. 73–82, 1995.

RAI, A. K.; PANDEY, A.; SAHOO, D. Biotechnological potential of yeasts in functional food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 83, n. Nov., p. 129–137, 2019.

REN, X. et al. Effects of Low Temperature on Shrimp and Crab Physiology, Behavior, and Growth: A Review. **Frontiers in Marine Science**, v. 8, 2021.

REVERTER, M. et al. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. **Aquaculture**, v. 433, p. 50–61, 2014.

ROWDY, C. L. et al. Biofloc-based Aquaculture Systems. **Aquaculture Production Systems**, p. 278–307, 2012.

SHEIKHZADEH, N. et al. Hilyses®, fermented *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the growth performance and skin non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 32, n. 6, p. 1083–1087, 2012.

SILVA, B.C.; VIEIRA, F.N.; MOURIÑO, J.L.P.; FERREIRA, G.S.; SEIFFERT, W.Q. 2013 Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. **Aquaculture**, 384: 104-110.

- SILVA, B.C.; VIEIRA, F.N.; MOURIÑO, J.L.P.; RAMÍREZ, N.; SEIFFERT, W.Q. 2016 Butyrate and propionate improve the growth performance of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, 47: 612- 623.
- SIWICKI, A. K.; ANDERSON, D. P.; RUMSEY, G. L. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 41, n. 1–2, p. 125–139, 1994.
- SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**, 7 ed. Rio de Janeiro: LTC. 474 p. 2002.
- TAN, L. N. et al. Growth, body composition and intestinal enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary zinc. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 3, p. 338–345, 2011.
- TEPAAMORNDECH, S. et al. Effects of *Bacillus aryabhatai* TBRC8450 on vibriosis resistance and immune enhancement in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 86, p. 4–13, 2019.
- TIMOTHÉE ANDRIAMIALINIRINA, H. J. et al. The effects of dietary yeast hydrolysate on growth, hematology, antioxidant enzyme activities and non-specific immunity of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 101, n. Nov., p. 168– 175, 2020.
- VALLEE, B. L.; FALCHUK, K. H. The biochemical basis of zinc physiology. **Physiological Reviews**, v. 73, n. 1, p. 79–118, 1993.
- VATSOS, I. N.; REBOURS, C. Seaweed extracts as antimicrobial agents in aquaculture. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 5, p. 2017–2035, 2015.
- WASIELESKY, W.; et al. Nursery of *Litopenaeus vannamei* reared in a biofloc system: the effect of stocking densities and compensatory growth. **Journal of Shellfish Research**, v. 32, n. 2, p. 799-806, 2013.
- XU, W.J.; et al. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. **Aquaculture**, v. 350, p. 147-153, 2012.
- ZHANG, J.; LIU, Y.; TIAN, L.; YANG, H.; LIANG, G.; XU, D. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and estress tolerance of juvenile Pacif White shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, 33, 1027-1032. 2012.