



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA

MARCOS VINICIOS DA SILVA ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DO USO DE DIFERENTES FONTES DE CARBONO FERMENTADAS
COM PROBIÓTICO NO CULTIVO DO CAMARÃO MARINHO *Penaeus vannamei*
INFECTADO COM O VÍRUS DA MIONECROSE INFECCIOSA (IMNV)**

FORTALEZA

2024

MARCOS VINICIOS DA SILVA ALMEIDA

AVALIAÇÃO DO USO DE DIFERENTES FONTES DE CARBONO FERMENTADAS
COM PROBIÓTICO NO CULTIVO DO CAMARÃO MARINHO *Penaeus vannamei*
INFECTADO COM O VÍRUS DA MIONECROSE INFECCIOSA (IMNV)

Monografia apresentada ao Departamento
de Engenharia de Pesca da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto
Nunes

Coorientador: Dr. Alysso Lira Angelim

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A449a Almeida, Marcos Vinicios da Silva.

Avaliação do uso de diferentes fontes de carbono fermentadas com probiótico no cultivo do camarão marinho *Penaeus vannamei* infectado com o vírus da mionecrose infecciosa (IMNV) / Marcos Vinicios da Silva Almeida. – 2024.

88 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes.

Coorientação: Prof. Dr. Alysson Lira Angelim.

1. Carcinicultura. 2. Desempenho zootécnico. 3. Camarões - Alimentação e rações. 4. Simbióticos. I. Título.

CDD 639.2

MARCOS VINICIOS DA SILVA ALMEIDA

AVALIAÇÃO DO USO DE DIFERENTES FONTES DE CARBONO FERMENTADAS
COM PROBIÓTICO NO CULTIVO DO CAMARÃO MARINHO *Penaeus vannamei*
INFECTADO COM O VÍRUS DA MIONECROSE INFECCIOSA (IMNV)

Monografia apresentada ao Departamento
de Engenharia de Pesca da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Pesca.

Aprovada em: 24/09/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Alysson Lira Angelim (Coorientador)
Biotrends Soluções Biotecnológicas (BIOTRENDS)

Prof. Dr. Aldeney Andrade Soares Filho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Francisco Hiran Farias Costa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À minha mãe, Eliene Bento da Silva.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente à minha mãe, Eliene por todo apoio me dado durante a graduação, pelos momentos de descontrações e por sempre me incentivar a seguir os meus sonhos.

À minha companheira, Samyra Freitas, por me apoiar, incentivar e por me ajudar também na elaboração da monografia com sua grande habilidade em Qgis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes pela oportunidade de estagiar no LANOA, pelo apoio intelectual, por todos os ensinamentos que me guiaram a ser um bom profissional e ser humano, por ser um pesquisador excepcional e pela grande dedicação na orientação da monografia. Sua colaboração foi inestimável para a elaboração desse trabalho.

A todos os funcionários do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (Antônio Carlos, Jordana, Júnior, Rayssa e Sandra) que me passaram valiosos ensinamentos durante o tempo em que estagiei no LANOA. Gostaria de agradecer especialmente ao Antônio Carlos que me ajudou diretamente na alimentação dos camarões enquanto eu estava em horário de aula.

À Biotrends – Soluções Biotecnológicas pelo apoio em diversas etapas da pesquisa, desde a idealização até o último dia na despesca, por me receber nas instalações para acompanhar todas as etapas da microbiologia e pelas análises virais realizadas após o término do cultivo, mais especificamente à Alysson, Bárbara, Fernanda, Marlon, Ronaldo e Samantha.

Ao meu Coorientador, Alysson Lira Angelim pelas discussões grandiosas sobre probióticos e pela orientação na minha monografia e pela amizade, sou muito grato por ter tido a oportunidade de aprender tanto com um profissional exemplar.

Aos estagiários, com quem pude compartilhar bons momentos durante o período em que estive no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA), especialmente a Aline, Bruce, Caio, Eduardo e Pedro. Gostaria de destacar o Caio, com quem desenvolvi uma forte amizade desde os primeiros dias da graduação até os dias atuais.

À Prefeitura Municipal de Aquiraz, mais especificamente a SESJUV que me proporcionou todo o auxílio para que eu concluísse a graduação com excelência e a SEAGRO que me proporcionou grandes experiências como Engenheiro de Pesca.

À CORAq – Consultoria em Recursos Aquáticos e a todos os membros pelos valiosos ensinamentos e oportunidades durante a minha graduação.

Ao PET – Engenharia de Pesca (UFC), a todos os membros integrantes e aos tutores pelo apoio durante a execução da minha pesquisa e a todos os ensinamentos durante os anos em que fui PETiano.

Por fim, agradeço também ao Departamento de Engenharia de Pesca e a todos os professores que me proporcionaram uma formação de qualidade.

A minha formação como Engenheiro de Pesca só foi possível pois todos vocês mencionados aqui contribuíram e serei eternamente grato em relação a isso.

“Nunca fique parado, sempre dê o primeiro passo, pois a força de atrito cinético é sempre menor do que a força de atrito estático.”

(Marcos Vinicios).

RESUMO

Diversos agentes patogênicos dificultam o desenvolvimento da carcinicultura, destacando-se os vírus e as bactérias. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos dos fermentados no desempenho zootécnico (sobrevivência, ganho de peso e FCA) dos camarões; avaliar os efeitos dos fermentados com probiótico sobre os parâmetros físico-químicos da água de cultivo; e analisar o crescimento de bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Vibrio* e de leveduras. O estudo consistiu na avaliação de quatro misturas fermentadas probióticas: BM (probióticos), FA (farelo de arroz e probióticos), FM (melaço de cana-de-açúcar e probióticos) e FMA (farelo de arroz, melaço de cana-de-açúcar e probióticos), além de um controle, CTL (melaço de cana-de-açúcar). As misturas foram aplicadas diariamente na água de cultivo dos camarões durante um período contínuo de 65 dias. Os camarões foram estocados na densidade de 117 animais/m² em 40 tanques circulares com 1 m³ de volume. Na despesca, determinou-se a sobrevivência final (%), crescimento (g/semana), ganho de biomassa (g), ganho de produtividade (g/m²) e fator de conversão alimentar (FCA). Os camarões alcançaram uma sobrevivência final de 46,1 ± 8,8; 62,8 ± 16,4; 65,7 ± 19,7; 88,3 ± 8,0 e 49,8 ± 8,8 g/m² para os tratamentos CTL, BM, FA, FM e FMA, respectivamente. A produtividade foi de 515 g/m² para o tratamento FM e de 291, 382, 356 e 356 g/m² para os tratamentos CTL, BM, FA e FMA respectivamente. Os valores de *Vibrio* spp. foram quantificados e os resultados foram de 3,21x10³±1,23x10³; 5,52x10³±1,10x10³; 3,24x10³±1,99x10³; 2,46x10³±1,15x10³ e 2,60x10³±1,27x10³ para os tratamentos CTL, BM, FA, FM e FMA, respectivamente. A carga viral de IMNV também foi quantificada obtendo os resultados de 15.480,67 ± 508,13; 19.838 ± 214,11; 16.614 ± 747,81; 9.240 ± 699 e 10.996,67 ± 924,18 cópias virais/μg de RNA para os tratamentos CTL, BM, FA, FM e FMA, respectivamente. O tratamento FM apresentou as menores cargas de *Vibrio* spp. e IMNV, o que pode ter promovido as melhores sobrevivências. Dessa maneira, é possível concluir que o fermentado de melaço e probióticos (FM) consegue trazer resultados satisfatórios para a sobrevivência e a produtividade no cultivo do *P. vannamei*, mesmo sob a condição de coinfeção com *Vibrio* spp. e IMNV.

Palavras-chave: carcinicultura; enfermidades; simbióticos; desempenho zootécnico.

ABSTRACT

Several pathogenic agents hinder the development of shrimp farming, with viruses and bacteria being the most prominent. The objective of this study was to evaluate the effects of fermented products on zootechnical performance (survival, weight gain, and FCR) of shrimp; to assess the effects of fermented products with probiotics on the physical-chemical parameters of the culture water; and to analyze the growth of bacteria from the genera *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Vibrio*, and yeasts. The study involved the evaluation of four probiotic fermented mixtures: BM (probiotics), FA (rice bran and probiotics), FM (sugarcane molasses and probiotics), and FMA (rice bran, sugarcane molasses, and probiotics), in addition to a control, CTL (sugarcane molasses). The mixtures were applied daily to the shrimp culture water over a continuous period of 65 days. Shrimp were stocked at a density of 117 animals/m² in 40 circular tanks with a volume of 1 m³. At harvest, final survival (%), growth (g/week), biomass gain (g), productivity gain (g/m²), and feed conversion ratio (FCR) were determined. Shrimp reached a final survival of 46.1 ± 8.8; 62.8 ± 16.4; 65.7 ± 19.7; 88.3 ± 8.0, and 49.8 ± 8.8 g/m² for the CTL, BM, FA, FM, and FMA treatments, respectively. Productivity was 515 g/m² for the FM treatment and 291, 382, 356, and 356 g/m² for the CTL, BM, FA, and FMA treatments, respectively. *Vibrio spp.* counts were quantified, with results of 3.21x10³±1.23x10³; 5.52x10³±1.10x10³; 3.24x10³±1.99x10³; 2.46x10³±1.15x10³, and 2.60x10³±1.27x10³ for the CTL, BM, FA, FM, and FMA treatments, respectively. The viral load of IMNV was also quantified, yielding results of 15,480.67 ± 508.13; 19,838 ± 214.11; 16,614 ± 747.81; 9,240 ± 699, and 10,996.67 ± 924.18 viral copies/μg of RNA for the CTL, BM, FA, FM, and FMA treatments, respectively. The FM treatment showed the lowest loads of *Vibrio spp.* and IMNV, which may have promoted the highest survival rates. Thus, it can be concluded that the fermented molasses and probiotics (FM) yield satisfactory results for the survival and productivity of *P. vannamei* culture, even under co-infection with *Vibrio spp.* and IMNV.

Keywords: shrimp farming; diseases; symbiotic; zootechnical performance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – LANOA (Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos)	29
Figura 02 – Desenho experimental dos tratamentos	31
Figura 03 – Fertilização nos tanques do CTL, sem a devida utilização de probióticos.....	32
Figura 04 – Fertilização nos tanques dos tratamentos BM, FA, FM e FMA	33
Figura 05 – Amostras coletadas para análise microbiológica	40
Figura 06 – Aspecto das morfologias coloniais em cada um dos tratamentos observadas nas placas de Petri contendo diferentes meios de cultura durante o monitoramento de 60 dias de cultivo para os grupos de microrganismos: A. <i>Vibrio</i> spp.; B. Bactérias heterotróficas totais; C. <i>Lactobacillus</i> spp. e D. Leveduras.....	55

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 – Produção de Organismos Aquáticos no Brasil pela Pesca e Aquicultura na última década	19
Gráfico 02 – Produção de Organismos Aquáticos no mundo pela Pesca e Aquicultura entre 2012 a 2022	19
Gráfico 03 – Dinâmica dos sólidos sedimentáveis (mL/L) em função dos dias de cultivo e fermentados probiótico aplicados. Cada ponto representa a média das leituras da água de cultivo de dois tanques realizadas com um cone de Imhoof de cada tratamento experimental. Letras em comum indicam diferença não estatisticamente significativa ($P < 0,05$) de acordo com o teste de Duncan	48
Gráfico 04 – Contagens de <i>Vibrio</i> spp., bactérias heterotróficas totais, <i>Lactobacillus</i> spp. e leveduras após 15 dias de povoamento. Letras diferentes no mesmo grupo de microrganismos indicam diferença estatística por One-Way ANOVA com teste de Tukey (valor- $p < 0,05$)	52
Gráfico 05 – Contagens de <i>Vibrio</i> spp., bactérias heterotróficas totais, <i>Lactobacillus</i> spp. e leveduras após 60 dias de povoamento. Letras diferentes no mesmo grupo de microrganismos indicam diferença estatística por One-Way ANOVA com teste de Tukey (valor- $p < 0,05$)	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Composição do probiótico comercial BM-PRO® (Biotrends Soluções Biotecnológicas, Ceará, Brasil)	30
Tabela 02 – Tabela de alimentação empregada no estudo	37
Tabela 03 – Desempenho zootécnico (média ± desvio padrão) de juvenis do camarão <i>P. vannamei</i> ao término do cultivo. Os camarões foram cultivados por 65 dias sob a densidade de 117 animais/m ² . Os valores médios foram obtidos de sete tanques de cultivo. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$) de acordo com o teste a <i>posteriori</i> de Duncan	44
Tabela 04 – Compostos nitrogenados e alcalinidade no cultivo do camarão marinho <i>Penaeus vannamei</i> durante o experimento em cada tratamento. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$) de acordo com o teste a <i>posteriori</i> de Duncan	49
Tabela 05 – Valores das quantificações de bactérias heterotróficas totais, <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Vibrio</i> spp. e de leveduras nas diferentes condições experimentais com 15 e 60 dias de cultivo. Letras diferentes no mesmo grupo de microrganismos indicam diferença estatística por One-Way ANOVA com teste de Tukey (valor- $p < 0,05$)	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 01 – Composição das misturadas fermentadas probióticas com respectivas abreviações em cada tratamento.....	30
Quadro 02 – Preparo dos fermentados para aplicação nos tratamentos BM, FA, FM e FMA. As quantidades são dadas para cada tratamento, consistindo de oito tanques de 1 m ³ cada	35
Quadro 03 – Equipamentos empregados para a medição dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCC	Associação Brasileira de Criadores de Camarão
AMRS	Ágar de Man, Rogosa e Sharpe
AS	Ágar <i>Sabouraud</i>
ATGE	Ágar Triptona, Glicose e Extrato de Levedura
AXOS	Arabino xilooligossacarídeos
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FCA	Fator de Conversão Alimentar
FOS	Frutooligossacarídeos
GOS	Galacto-oligossacarídeos
IHHNV	Vírus da Necrose Hipodérmica Hematopoiética Infecciosa
IMN	Mionecrose Infecciosa
IMNV	Vírus da Mionecrose Infecciosa
IMO	Isomalto-oligossacarídeo
LSS	Síndrome da Casca Solta
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MOS	Mananoligossacarídeo
MPA	Ministério da Pesca e Aquicultura
MSGs	Síndrome do Crescimento Lento de Monodon
OIE	Organização Mundial da Saúde Animal
PB	Proteína Bruta
PLs	Pós-larvas
PVC	Policloreto de vinila
RT-PCR	Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
SCFAs	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
SS	Sólidos Sedimentáveis
TCBS	Tiosulfato, Citrato, BÍlis e Sacarose
TSV	Vírus da Síndrome de Taura
UFC	Unidade Formadora de Colônia
WSSV	Vírus da Síndrome da Mancha Branca
XOS	Xilo-oligossacarídeos

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca Registrada
°C	Graus Celsius
™	Marca Registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Aquicultura	18
2.1.1 Penaeus vannamei no Brasil e no Mundo	20
2.1.2 Enfermidades	22
2.1.3 Qualidade de Água no Cultivo	24
2.2 Probióticos, Prébióticos e Simbióticos	25
2.2.1 Probióticos	25
2.2.2 Prébióticos	26
2.2.3 Simbióticos	27
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 Local do Estudo e Delineamento Experimental	29
3.2 Sistema de Cultivo e Preparação dos Tanques	31
3.3 Fertilização da Água de Cultivo	32
3.4 Protocolo de Ativação do Probiótico e Fermentação	33
3.5 Povoamento, Alimentação e Manejo	35
3.6 Análise dos Parâmetros de Qualidade de Água	37
3.7 Desempenho Zootécnico e Diagnóstico de Enfermidades	38
3.8 Análise Microbiológica	38
3.9 Análise Estatística	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 Análise da Presença e Carga Viral nos Camarões Despescados	41
4.2 Desempenho Zootécnico	42
4.3 Parâmetros Físico-químicos de Qualidade de Água	45
4.4 Análises Microbiológicas	50
5 CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	60
APÊNDICE A – DIAGNÓSTICO VIRAL NO INÍCIO DO EXPERIMENTO	70
APÊNDICE B – DIAGNÓSTICO VIRAL APÓS O EXPERIMENTO	75

1 INTRODUÇÃO

A carcinicultura marinha é uma das atividades que mais vem se desenvolvendo nos últimos anos no mundo inteiro, sendo a espécie de camarão marinho *Penaeus vannamei* a maior responsável pelo crescimento da produção, correspondendo sozinha a mais de 50% de todos os crustáceos produzidos no mundo, além disso acumula um crescimento na produção acima de 100% quando se compara os dados de 2010 até os dias atuais (FAO, 2024a). No Brasil, esse aumento em nível global é refletido quando analisamos os dados atuais da produção nacional, com uma marca de 113.300 toneladas em 2022 dobrando os números alcançados em 2016 (FAO, 2024a).

Todo esse crescimento da carcinicultura marinha se deve a maior intensificação nas práticas de manejo. A intensificação é necessária para continuar a aumentar os níveis de produção ano após ano, e uma das consequências desse processo foi o aumento do número de surtos de doenças (DAWOOD, 2018). Além disso, diversos foram os desafios que surgiram com a necessária intensificação da carcinicultura marinha, sendo um dos mais importantes entraves as grandes mortalidades registradas em fazendas de produção no mundo inteiro (LIGHTNER, 2011).

A principal característica quando se fala em intensificação se refere ao maior adensamento de animais em uma determinada área, e toda essa nova interação de maior disputa por recursos no ambiente associada a fatores estressantes gerados por perturbações ambientais podem deixar os animais suscetíveis a enfermidades, principalmente, as doenças de origem viral como IMNV, IHHNV e WSSV (LIGHTNER, 2011). Porém não são somente doenças virais que trazem mortalidades na produção, as bactérias oportunistas também são, até os dias atuais, responsáveis por altos índices de mortalidade no cultivo do *Penaeus vannamei*, destacando-se as bactérias do gênero *Vibrio* (PASHARAWIPAS *et al.*, 2005).

Nesse contexto, surgiram diferentes estratégias para combater as enfermidades enfrentadas na produção animal, e uma das estratégias que mais ganhou atenção e que hoje possui um consumo ativo pelo mercado foram os probióticos (RAMÍREZ, 2013). Probióticos são definidos como microrganismos vivos que têm um efeito benéfico sobre o hospedeiro, modificando a microbiota associada ao hospedeiro ou ambiente, sendo capaz de otimizar a absorção dos alimentos ou

aumentar o seu valor nutricional, maximizar a resposta do hospedeiro em relação às doenças e ainda, é capaz de melhorar a qualidade do ambiente de cultivo (VERSCHUERE *et al.*, 2000).

A escolha da fonte de carbono utilizada em conjunto com os probióticos é de suma importância para um melhor resultado no fermentado, essa mistura entre probióticos e carbonos também pode ser conhecida no mercado como simbiótico. Uma das fontes de carbono mais utilizadas é o melaço de cana de açúcar, um subproduto do processo de refinamento do açúcar, sendo composto principalmente por carboidratos mais simples como sacarose. Por mais que seja uma fonte de carbono muito relevante, o seu preço é elevado, o que pode dificultar o seu uso constante. Outra fonte de carbono importante é o farelo de arroz, um subproduto das indústrias de processamento de arroz, sendo considerado um carboidrato complexo (LIZ, 2022).

Sabe-se que diversos são os efeitos benéficos dos probióticos, sendo a modulação do sistema imune um dos efeitos mais importantes da utilização dos probióticos (SOUZA, 2011). O uso de probióticos para auxiliar na saúde animal já está difundido no mundo inteiro (SANTOS-JUNIOR *et al.*, 2016). No entanto, até onde sabemos, são escassas as informações sobre a influência das fontes de carbono na qualidade final do fermentado.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o uso de diferentes fontes de carbono fermentadas com probióticos no cultivo de juvenis de *P. vannamei* infectados com o vírus da IMNV. Especificamente, avaliar os efeitos dos fermentados no desempenho zootécnico (sobrevivência, ganho de peso e FCA) dos camarões; avaliar os efeitos dos fermentados sobre os parâmetros físico-químicos da água de cultivo e quantificar a carga de bactérias heterotróficas totais, *Lactobacillus* spp., *Vibrio* spp. e leveduras.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aquicultura

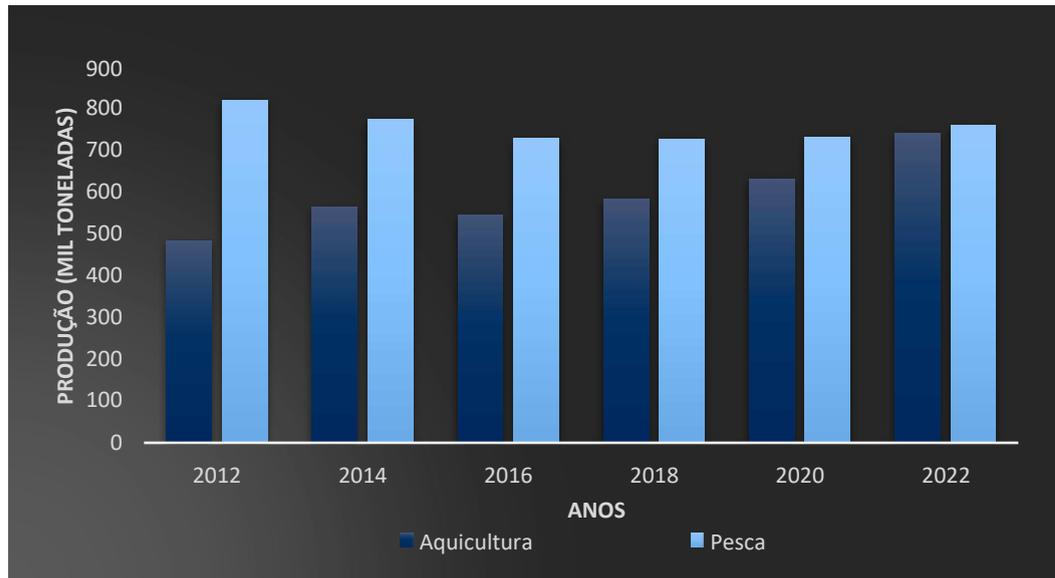
Sabe-se que hoje a produção de pescado decorrente da pesca extrativa chegou ao seu limite, para suprir isso o cultivo de organismos aquáticos em ambientes controlados se desenvolveu ano após ano, sendo a aquicultura hoje um dos setores de maior produção de proteína animal e com a maior taxa de crescimento no mundo (BUTT, 2021).

Devido ao aumento da procura de alimentos de origem aquática, a aquicultura emergiu e atingiu níveis de produção consideravelmente altos, principalmente, por prover uma fonte de proteína de altíssima qualidade nutricional, cultivar o pescado ao invés de fazer a captura no ambiente natural vem ajudando a atender não só a demanda crescente por pescado como também a não esgotar todos os recursos pesqueiros (NADARAJAH; FLAATEN, 2017).

No Brasil, a aquicultura teve início no século XVII, pela ocupação dos holandeses no nordeste brasileiro, somente chegando a um nível profissional na década de 1970, portanto, a aquicultura industrial é uma atividade relativamente jovem no Brasil, com cerca de meio século de existência, sendo a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e o camarão branco do Pacífico (*Penaeus vannamei*) os pescados mais produzidos no país (VALENTI *et al.*, 2021).

Diante desse cenário de atraso na expansão da aquicultura brasileira, vale lembrar que a pesca de captura sempre foi a líder de produção de pescado, e até 2022 ainda se configura como o meio principal de oferta de pescados, porém nesse mesmo ano a aquicultura obteve números bem expressivos, ficando bem próximo de alcançar os números de produção da pesca (Gráfico 01).

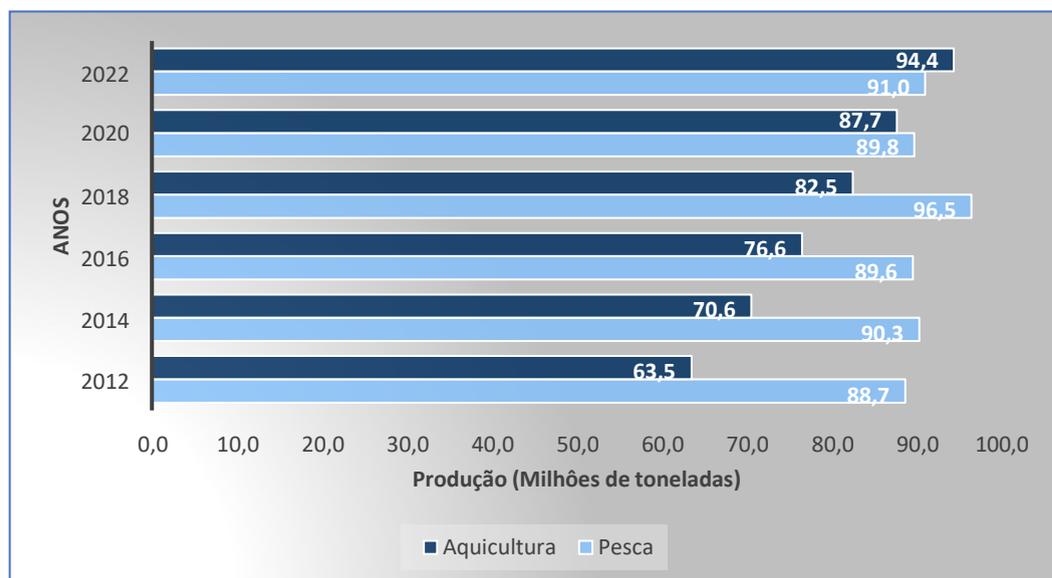
Gráfico 01 - Produção de Organismos Aquáticos no Brasil pela Pesca e Aquicultura na última década.



Fonte: FishStatJ (2024), adaptado pelo autor.

Em relação a produção geral de pescado, essa avaliação recente identificou que a produção brasileira se aproxima de 1,5 milhões de toneladas, convergindo com os dados obtidos a nível mundial de que os níveis de produção pela Aquicultura e pela Pesca de Captura estão muito próximos (Gráfico 02).

Gráfico 02 - Produção de Organismos Aquáticos no mundo pela Pesca e Aquicultura entre 2012 a 2022.



Fonte: FishStatJ (2024), adaptado pelo autor.

Devido a contribuição do setor aquícola a nível mundial para a segurança alimentar, é de crucial importância que o desenvolvimento da aquicultura ocorra de forma sustentável, só assim a aquicultura conseguirá satisfazer a procura futura por pescado de uma população mundial de 9,6 bilhões de pessoas estimada até 2050 (NADARAJAH; FLAATEN, 2017).

2.1.1 *Penaeus vannamei* no Brasil e no Mundo

O camarão marinho *Penaeus vannamei* é uma das espécies de maior sucesso na revolução azul, correspondendo a uma produção global de 6,8 milhões de toneladas, cerca de 7,2% de toda produção de crustáceos, moluscos e peixes (FAO, 2024b).

Segundo Boone (1931), a taxonomia deste crustáceo é a seguinte:

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Subfilo: Crustacea

Classe: Malacostraca

Ordem: Decapoda

Subordem: Dendrobranchiata

Família: Penaeidae

Gênero: *Penaeus*

Espécie: *P. vannamei*

A demanda mundial por camarões é grande, devido a isso uma carcinicultura firme que preze pela sustentabilidade é a única forma de continuar expandindo a produção (SUMON *et al.*, 2022). O cultivo de camarões proporciona emprego a centenas de milhares de trabalhadores qualificados e não qualificados em vários países do mundo, além disso, fornece proteínas valiosas com um ótimo perfil de gorduras insaturadas para a população (NAYLOR *et al.*, 2021; PATIL *et al.*, 2021).

Uma das criações de sucesso no passado foi o cultivo do *Penaeus monodon*, que muito sofreu com as perdas causadas pelo Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV), a Síndrome de Loose Shell (LSS) e a síndrome do crescimento lento de Monodon (MSGs), atualmente o setor da aquicultura mudou seu foco concentrando grandes esforços no cultivo do *P. vannamei* devido à sua alta

produtividade, envolvimento de baixo custo e disponibilidade de formas jovens livres de patógenos (PRASAD *et al.*, 2017). O elevado valor comercial do *P. vannamei* e o ciclo de produção relativamente curto são as principais razões pelas quais a produção ainda ocorre em grande escala, apesar dos significativos desafios de doenças enfrentados em muitos países produtores (ASCHE *et al.*, 2021).

O sucesso da produção de *P. vannamei* começou no Equador, durante o final da década de 60, na qual os produtores locais iniciaram o cultivo extensivo da espécie em 20 hectares de área de produção na província de El Oro, logo após, em 1974, expandiu-se para 600 hectares no mesmo modelo extensivo e apenas três anos depois, para 3.000 hectares entre as províncias de Guayas e El Oro (CRIDER, 2012). Ainda em meados da década de 70, a alimentação artificial foi introduzida no Equador, o que modificou o sistema de cultivo extensivo para sistemas semi-intensivos, que manteve o Equador na vanguarda da produção de camarão do continente americano, fornecendo até hoje mais de 50% do camarão produzido no hemisfério ocidental (ANDERSON; VALDERRAMA; JORY, 2019). No Equador, ao contrário da Ásia, a indústria do camarão é dominada por operações corporativas que integram explorações aquícolas, larviculturas, fábricas de ração e unidades de processamento (CHAMBERLAIN, 2010).

Na América Latina, a maioria dos países tropicais também desenvolveram a carcinicultura. Este é o caso do Brasil que possui condições climáticas, hidrográficas e topográficas favoráveis que permitem a produção de *P. vannamei* de 3 a 4 ciclos de 90 dias por ano (ABREU *et al.*, 2011). No Nordeste do Brasil, a criação do camarão branco do Pacífico, *P. vannamei*, tem sido uma importante fonte de renda para os grandes produtores e também a atividade principal ou complementar de geração de renda para as comunidades rurais mais pobres e seus pequenos agricultores (MARQUES *et al.*, 2015).

Em relação a exportação, a contribuição do mercado brasileiro no fornecimento mundial de camarões caiu drasticamente de 42.500 toneladas (65,4% da produção), em 2005, para 5.728 toneladas (8,81% da produção), em 2009 (ABCC, 2011) e até o momento não há sinal de retorno e nem motivo para uma volta energética da exportação. Na época do ocorrido, o Brasil era um dos países líderes nas exportações para a Europa, mas em 2009 caiu para a 28ª posição (ABCC, 2011). A produção da carcinicultura permaneceu constante apenas porque os produtores conseguiram aumentar as vendas internas.

2.1.2 *Enfermidades*

Penaeus vannamei tem sido considerada a espécie mais viável para cultivo e certamente superior às espécies nativas devido à sua alta adaptabilidade às diversas condições de qualidade de água encontradas nos estuários tropicais (PASCOAL *et al.*, 2011, LOEBMANN *et al.*, 2010).

A ameaça à sustentabilidade da aquicultura e ao comércio internacional seguro também levou os países a aplicarem normas comerciais com base no seu próprio estatuto de saúde dos animais aquáticos (FAO, 2014). Quando for capaz de demonstrar que um determinado agente de doença está ausente, um país pode facilitar o comércio ou aplicar análises de risco de importação (FAO, 2014 & WTO, 2014).

Na lista de doenças virais de notificação obrigatória em populações de camarões elaborada pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) do Brasil, a Coordenação de Animais Aquáticos faz referência à presença no Brasil somente do Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV), Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) e Vírus da Necrose Hipodérmica Hematopoiética Infecciosa (IHNV) (MPA, 2021).

O fracasso dos carcinicultores brasileiros em implementar melhores práticas de manejo para controlar essas doenças e outros problemas ambientais e sanitários levou à imposição de restrições às importações pelos principais mercados (MARQUES *et al.*, 2011).

Paul e Vogl (2011) salientaram que os impactos negativos da carcinicultura e das restrições de mercado surgiram de más práticas de planejamento e gestão, bem como de fraca aplicação das regulamentações. Em resposta às críticas, os pesquisadores e as grandes empresas têm tentado desenvolver boas práticas tecnológicas de aquicultura e melhores práticas de gestão.

No Nordeste do Brasil, a criação do *camarão* branco do Pacífico *Penaeus vannamei* tem sido uma importante fonte de renda para os grandes produtores e também a atividade principal ou complementar de geração de renda para as comunidades rurais mais pobres e seus pequenos agricultores. Em muitos casos, a ocorrência de doenças virais levou ao abandono das atividades agrícolas (OSTRENSKY *et al.*, 2008).

As doenças também têm sido um fator de redução das exportações. Em 2004, houve um surto de doença (IMNV) em camarões cultivados que afetou drasticamente a produtividade (PINHEIRO *et al.*, 2007). Quase todas as fazendas com camarão cultivado no estado do Piauí (Nordeste do Brasil) e estados adjacentes sofreram com uma alta incidência de epidemias virais que foram letais para o *Penaeus vannamei* cultivado e poderiam ser transmitidas aos camarões *peneídeos* nativos. Em 2005, outra doença, o vírus da síndrome da mancha branca (WSSV), foi relatada no estado de Santa Catarina, mantendo produtores de todo o Brasil em um estado de constante incerteza (SILVA *et al.*, 2010). Entre 2015 a 2017, a Síndrome da Mancha Branca diminuiu drasticamente a produção de camarão nacional.

Entre muitas doenças virais de camarões cultivados que se espalharam pelo mundo, causando grandes perdas econômicas, está a doença da mionecrose infecciosa (IMN), causada pelo vírus da mionecrose infecciosa (IMNV). As doenças foram inicialmente detectadas no nordeste do Brasil em 2002 e, posteriormente, relatadas na ilha de Java, na Indonésia, por volta de 2006 (POULOS *et al.*, 2006, SENAPIN *et al.*, 2007). Mais recentemente, o Vírus da IMN foi relatado em Bengala Ocidental, Índia (HAMEED *et al.*, 2017).

A doença causada pelo IMNV progride lentamente, com baixas taxas de mortalidade que persistem ao longo do ciclo de cultura e terminam com uma mortalidade cumulativa de 40-60% (TANG *et al.*, 2005). Devido ao seu extenso efeito negativo na cultura do camarão e ao impacto econômico da doença, o IMNV foi listado como agente notificável pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2009). Os sinais macroscópicos típicos da doença incluem extensas áreas necróticas no músculo esquelético, principalmente, nos segmentos abdominais distais e no leque da cauda com lesões de aparência branca e opaca.

O Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) é um potencial vírus emergente do camarão que pode causar uma perda econômica considerável na aquicultura de camarão (NUNES *et al.*, 2004). A doença foi relatada pela primeira vez no Estado do Piauí, Nordeste do Brasil, em 2002, no *Penaeus vannamei*, e inicialmente foi denominada Mionecrose Idiopática (LIGHTNER *et al.*, 2004). Por fim, a doença foi renomeada como Mionecrose Infecciosa (IMN) e o agente etiológico foi identificado como um vírus, denominado Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) (POULOS *et al.*, 2006, TANG *et al.*, 2008).

O vírus infecta todos os estágios de vida do camarão incluindo pós-larvas, juvenis e adultos, mas a mortalidade foi observada nos juvenis e adultos com aparência cozida (NUNES *et al.*, 2004). Como o principal tecido alvo da infecção por IMNV são os músculos esqueléticos e não os órgãos vitais, a infecção não é tão fatal em comparação com outros vírus de camarões como WSSV, IHNV e TSV (TANG *et al.*, 2005).

Patógenos de etiologia viral respondem atualmente por 60% das perdas pela doença nas atividades de carcinicultura em todo o mundo (FLEGEL, 2012). Dentre as estratégias empregadas para o manejo e prevenção de doenças em unidades de produção de camarão marinho, a redução da prevalência de vírus por meio do controle dos reprodutores tem sido a mais eficaz (BROCK & BULLIS, 2001).

Embora os camarões sobreviventes consigam desenvolver suas funções normalmente, caso eles venham a se tornar reprodutores existe uma grande possibilidade de que ocorra transmissão vertical do IMNV para a prole (SILVA *et al.*, 2016).

2.1.3 Qualidade de Água no Cultivo

A deterioração da qualidade da água é um fator importante que afeta o desempenho da produção de camarão (FERREIRA *et al.*, 2011, MA *et al.*, 2013). Os organismos aquáticos são suscetíveis a sofrer estresse quando as condições ecológicas não são adequadas. Altos níveis de estresse geram baixa alimentação e baixas taxas de crescimento, podendo ainda promover o aparecimento de doenças, uma boa condição de qualidade da água é essencial para uma aquicultura sustentável (CARBAJAL-HERNANDEZ *et al.*, 2013).

As rações fornecidas no cultivo de camarão podem gerar uma grande quantidade de matéria orgânica e nutrientes (principalmente fósforo e nitrogênio) como resíduos metabólicos (BOYD, 1985). Esses compostos competem com os animais aquáticos pelo oxigênio dissolvido na água, o que pode ocasionar asfixia dos organismos aquáticos e, portanto, uma elevada taxa de mortalidade nas indústrias aquícolas que não possuem um sistema de gestão de água adequado e eficiente (NG *et al.*, 2018).

Diferentes espécies aquáticas têm tolerâncias diferentes para compostos tóxicos específicos. Quando os parâmetros de qualidade da água ultrapassam esses

limites, a condição da qualidade da água deteriora-se gerando altos níveis de estresse nos organismos cultivados (CARBAJAL-HERNANDEZ *et al.*, 2013).

Compreender os processos ecológicos que ocorrem na carcinicultura é essencial para compreender os problemas de doenças enfrentados pelos produtores de *P. vannamei*. Um mau controle da qualidade da água irá aumentar o nível de estresse dos camarões e comprometer a produção, além de tornar os camarões mais suscetíveis a doenças (BOYD, 2002, FERREIRA *et al.*, 2011).

2.2 Probióticos, Prébióticos e Simbióticos

O risco do aumento de doenças na carcinicultura promove a investigação sobre o uso de probióticos para o desenvolvimento de uma aquicultura mais sustentável. Com a crescente preocupação pública sobre o uso de antibióticos, não é surpreendente o aumento rápido do crescimento dos probióticos para a aquicultura (HASAN; BANERJEE, 2020).

Sabe-se que o uso de antimicrobianos sintéticos é insustentável e inadequado ecologicamente, pois promove a resistência microbiana e facilita a transferência de genes de resistência (ANGELIM; COSTA, 2017).

Microrganismos heterotróficos como bactérias e leveduras não são capazes de produzir o próprio alimento e necessitam de uma fonte de carbono, esses microrganismos consomem a matéria orgânica, os compostos nitrogenados e são esses microrganismos que se costuma encontrar nos probióticos comerciais (PANDIYAN *et al.*, 2013).

Atualmente, há evidências de que os probióticos, podem não apenas aumentar a absorção de nutrientes e aumentar a resistência ao estresse, mas também aumentar a fertilidade da espécie alvo (CRUZ *et al.*, 2012).

2.2.1 Probióticos

O uso de probióticos surgiu como uma ferramenta estratégica para conviver com todos os patógenos que a intensificação trouxe consigo, sendo considerada uma ferramenta sustentável que consegue equilibrar os microrganismos no ambiente.

Para o Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2015) probióticos são: Cepas de micro-organismos vivos (viáveis), que agem como

auxiliares na recomposição da microbiota do trato digestório dos animais, contribuindo para o seu equilíbrio.

Os probióticos podem melhorar a imunidade e a taxa de sobrevivência, produzir enzimas digestivas e reduzir a ocorrência de doenças, probióticos também podem ser adicionados ao sistema de cultivo para melhorar a qualidade da água e evitar doenças infecciosas causadas por bactérias patogênicas (LLEWELLYN *et al.*, 2014).

Diferentes mecanismos de ação são desejados no potencial probiótico, como antagonismo a patógenos, capacidade das células de produzir metabólitos (como vitaminas) e enzimas, propriedades de colonização ou adesão, melhora do sistema imunológico, junta-se a isso, a exclusão competitiva que é um fenômeno pelo qual a microbiota estabelecida previne ou reduz a colonização de um desafio bacteriano concorrente para o mesmo local no intestino (PANDIYAN *et al.*, 2013; BUTT *et al.*, 2021).

Existem várias formas de atuação dos probióticos, tais como: a exclusão competitiva de bactérias patogênicas; a alteração das condições ambientais do intestino pelo aumento da produção de ácidos orgânicos; a produção de compostos com atividade antibacteriana (bacteriocinas, lactoferrina e lisozima) e a modulação da resposta imune (ANGELIM; COSTA, 2017).

O antagonismo bacteriano é um fenômeno comum na natureza, portanto, as interações microbianas desempenham um papel importante no equilíbrio entre microrganismos concorrentes benéficos e potencialmente patogênicos. Os compostos antagonistas são definidos como substâncias químicas produzidas por microrganismos (neste caso bactérias) que são tóxicas (bactericidas) ou inibitórias (bacteriostáticas) em relação a outros microrganismos. Acredita-se que a presença de bactérias produtoras de compostos antibacterianos no intestino do hospedeiro, em sua superfície ou em sua água de cultura previne a proliferação de bactérias patogênicas e até as elimina (BALCAZAR *et al.*, 2006).

2.2.2 Prébióticos

Prebióticos podem ser definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que são decompostos em substâncias mais simples, aumentando o

crescimento e a atividade de microrganismos benéficos encontrados no trato gastrointestinal, beneficiando a saúde do hospedeiro (BINDELS *et al.*, 2015).

Os prebióticos possuem a capacidade de serem metabolizados por bactérias benéficas, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) e lactato (RINGØ *et al.*, 2010). Os SCFAs podem ser absorvidos através do trato intestinal para atuar como fonte de energia, enquanto o lactato atua como estimulante para a gliconeogênese (BURR; GATLIN; RICKE, 2005). A produção de SCFAs ajuda a reduzir o pH do cólon, o que evita a proliferação de patógenos e aumenta o crescimento de *Bifidobacterium* e outras espécies bacterianas do tipo ácido láctico (MUSSATO; MANCILHA, 2007).

Dentre os principais prebióticos, temos um grande esforço do mercado em pesquisas utilizando a inulina, os frutooligossacarídeos (FOS), mananoligossacarídeos (MOS), galacto-oligossacarídeos (GOS), xilooligossacarídeos (XOS), arabinoxilooligossacarídeos (AXOS) e isomalto-oligossacarídeos (IMO). Esses compostos geralmente são derivados de plantas e fibras, e são os prebióticos comumente encontrados na carcinicultura (BUTT *et al.*, 2021).

2.2.3 Simbióticos

O termo simbiótico denota um suplemento que inclui prebióticos e probióticos em uma relação sinérgica. É um nutriente que ajuda a promover o crescimento e a sobrevivência de probióticos no trato gastrointestinal da espécie hospedeira, alterando a comunidade bacteriana oportunista (CHAUHAN; CHORAWALA, 2012).

A escolha de prebióticos para a formulação de simbióticos é baseada na sua capacidade de promover o crescimento e a sobrevivência de bactérias benéficas na faixa alvo. Já os probióticos são selecionados pelos efeitos específicos que proporcionam ao hospedeiro. Assim, a escolha dos prebióticos considera sua função principal de estimular o crescimento de bactérias probióticas, enquanto a escolha dos probióticos leva em conta os benefícios gerais que oferecem ao hospedeiro (KOLIDA; GIBSON, 2011).

Sua eficácia na carcinicultura é ainda demonstrada pelo aumento da estimulação do crescimento e sobrevivência das espécies hospedeiras. Isso ocorre

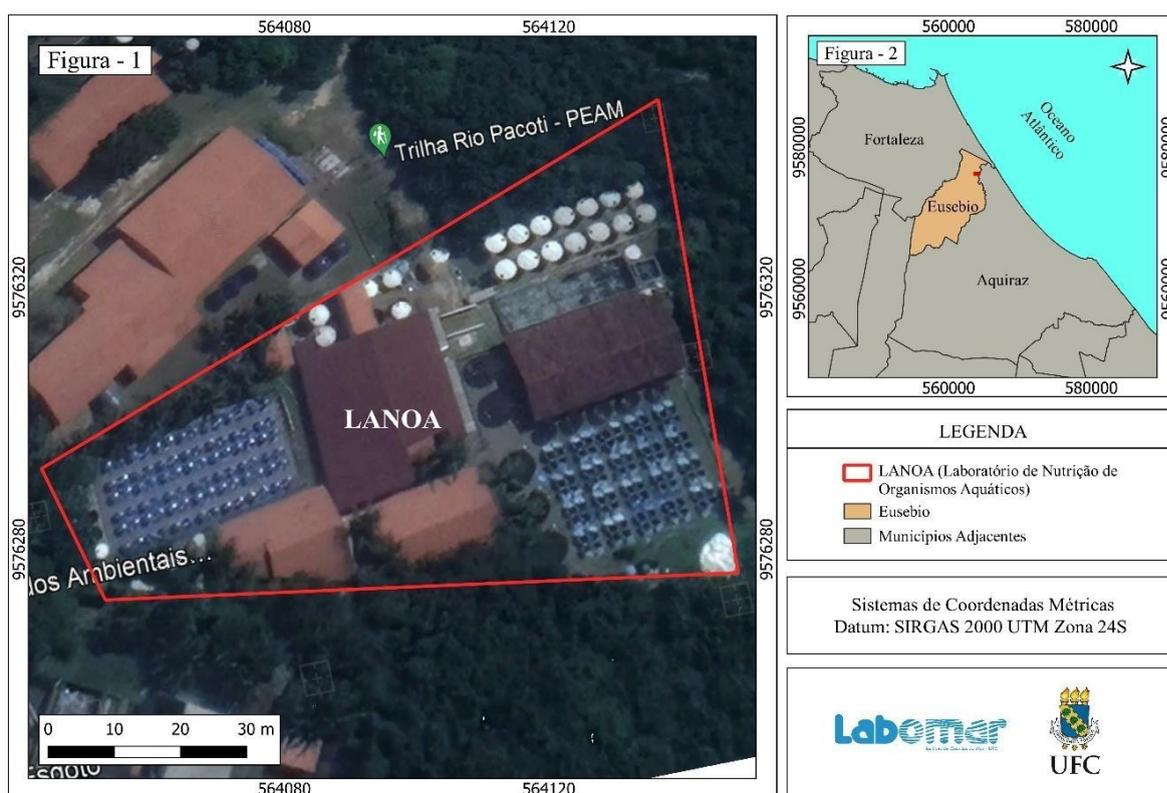
através da secreção de enzimas pancreáticas que leva à melhora na digestão enzimática, modulação na microbiota intestinal, redução da taxa de mortalidade pela alteração das respostas imunes potenciais e antagonismo a espécies patogênicas (FEBRIANTI; YUHANA, 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do Estudo e Delineamento Experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – (LANOA) do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), da Universidade Federal do Ceará (UFC). O laboratório está localizado no Centro de Estudos em Aquicultura Costeira (CEAC) no entorno do estuário do rio Pacoti, no município de Eusébio, estado do Ceará (Figura 01).

Figura 01 – Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – (LANOA)



Fonte: Google Earth, adaptado pelo autor.

O estudo consistiu na avaliação de quatro misturas fermentadas probióticas, além de um controle, aplicadas diariamente na água de cultivo dos camarões durante um período contínuo de 65 dias (Quadro 01). Os camarões foram estocados na densidade de 117 animais/m² em 40 tanques circulares com 1 m³ de volume.

Quadro 01 - Composição das misturas fermentadas probióticas com respectivas abreviações em cada tratamento.

Composição	Tratamentos
Melaço de cana-de-açúcar	CTL
Probiótico ¹	BM
Probiótico e farelo de arroz	FA
Probiótico e melaço de cana-de-açúcar	FM
Probiótico, farelo de arroz e melaço de cana-de-açúcar	FMA

¹BM-PRO®, Biotrends Soluções Biotecnológicas Ltda (Eusébio, CE)

Fonte: Elaborada pelo autor.

O aporte de bactérias probióticas no cultivo foi realizado a partir do uso contínuo do probiótico comercial BM-PRO®, provendo principalmente bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Lactobacillus*, além da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Tabela 01).

Tabela 01 - Composição do probiótico comercial BM-PRO® (Biotrends Soluções Biotecnológicas, Ceará, Brasil).

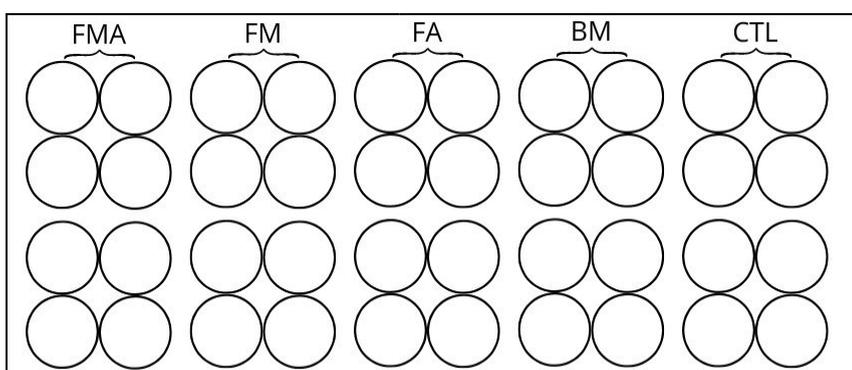
Espécies Probióticas	Concentração
<i>Bacillus subtilis</i>	$5.0 \cdot 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$
<i>Bacillus licheniformis</i>	$4.0 \cdot 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$
<i>Bacillus pumilus</i>	$4.0 \cdot 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$
<i>Lactobacillus plantarum</i>	$2.0 \cdot 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1.0 \cdot 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$4.0 \cdot 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$

UFC, Unidades Formadoras de Colônias.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para minimizar a possibilidade de uma eventual contaminação biológica por aerossóis entre os tanques de cultivo, foi adotado um delineamento sistemático. Para isso, os tratamentos e o controle foram organizados na unidade experimental de cultivo de forma sequencial, em blocos compostos por oito tanques (Figura 02).

Figura 02 – Desenho experimental dos tratamentos



Fonte: Elaborada pelo autor.

Na despesca, os animais foram pesados individualmente e os parâmetros de desempenho zootécnico determinados (sobrevivência final, crescimento, peso corporal final, produtividade e fatores de conversão alimentar).

3.2 Sistema de Cultivo e Preparação dos Tanques

O sistema de cultivo adotado no estudo foi composto por 40 tanques externos independentes de 1,0 m³, com área total de fundo de 1,02 m². A aeração por difusão de ar foi fornecida por dois sopradores de 7,0 cv conectados a linhas de PVC. O ar foi transferido ao fundo de cada tanque por uma mangueira microperfurada de aeração com 0,5 m (Aero-Tube™, Tekni-Plex Aeration, Austin, Texas, EUA). A aeração foi utilizada para saturar a água com oxigênio dissolvido durante todo o ciclo de cultivo. Um gerador a diesel de 150 kVA (Kilo Volt Amperes) foi usado como fonte de alimentação de reserva em caso de falha de energia. Os tanques são mantidos em área aberta, porém sob a proteção de uma lona de escura para proporcionar 70% de sombreamento (Sombrite® 1007, Equipisca Indústria e Comércio Ltda., Campinas, SP).

A preparação dos tanques consistiu na limpeza e desinfecção química. Os tanques vazios foram submetidos a uma limpeza das paredes internas, mangueiras de aeração e tampa com um jato de alta pressão para remoção de sujidades. Em seguida, as paredes internas, fundo e linhas de abastecimento e drenagem de água de cada tanque foram pulverizadas com um desincrustante a base de ácido sulfúrico (diluição de 1 L por 50 L de água doce; Ácido Clean, Launer Química Indústria e Comércio, Estrela, RS), sendo mantido em repouso por 24 h. Em seguida, aplicou-se

um desinfetante a base de ácido peracético (diluição de 1 L por 500 L de água doce; Peroxoni Plus, Launer Química Indústria e Comércio, Estrela, RS).

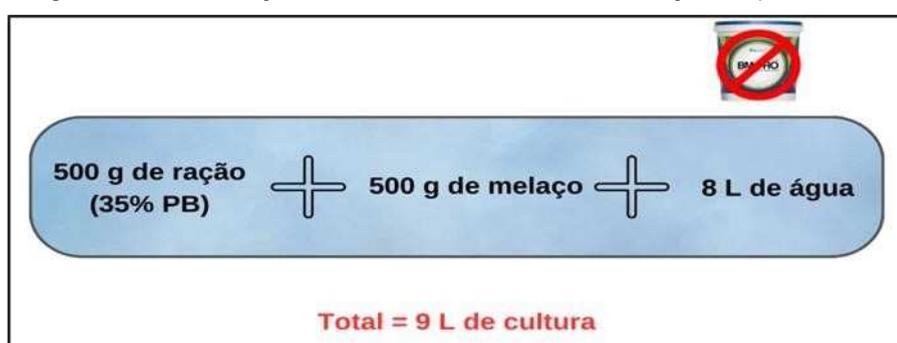
Finalmente, os tanques foram lavados com água doce e, em seguida, completamente preenchidos com água salgada filtrada em filtro de areia bombeada do estuário do Rio Pacoti misturada com água do poço para alcançar uma salinidade inicial de 15 g/L. A aeração foi ligada logo após o enchimento dos tanques.

3.3 Fertilização da Água de Cultivo

A água de cultivo foi submetida a uma fertilização precedendo o povoamento dos camarões. A água inicial de todos os tratamentos experimentais, com exceção do CTL, foi fertilizada seguindo um protocolo adaptado de fazendas de cultivo de camarão marinho que operam no Nordeste do Brasil. No caso do CTL, não houve a adição de um probiótico comercial.

Nos tanques do tratamento CTL, a fertilização foi constituída por 500 g de ração moída com 35% de proteína bruta (Camanutri 35, Neovia Nutrição Animal Ltda, São Loureço da Mata, PE) e 500 g de melação de cana-de-açúcar misturados com 8 L de água doce, totalizando 9 L dessa mistura para ser aplicado em 8 tanques, ou seja, 1,125 L/m³ (Figura 03).

Figura 03 – Fertilização no tratamento CTL, sem utilização de probióticos.

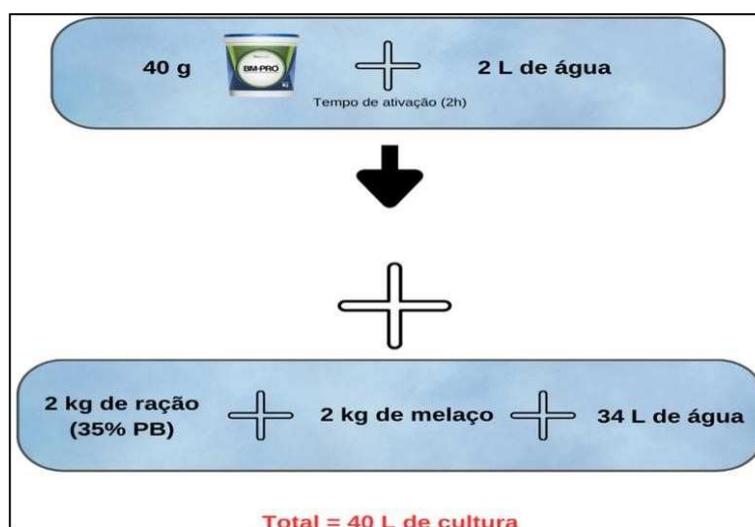


Fonte: Autoria própria

A fertilização nos tratamentos seguiu o mesmo protocolo do CTL, sendo, porém, incorporado um probiótico comercial (BM-PRO®, Biotrends Soluções Biotecnológicas Ltda., Eusébio, CE). A ativação do probiótico ocorreu seguindo orientações do fornecedor. Inicialmente, 40 g do probiótico foi misturado a 2 L de água doce em um Erlenmeyer, lacrado, mantido em repouso por 2 h, sem aeração. Após a

ativação, foi adicionado 2 kg de ração comercial moída para camarões (35% de proteína bruta) e 2 kg de melação da cana de açúcar misturado com 34 L de água doce. Essa mistura foi mantida em repouso, sem aeração, em uma bombona higienizada e lacrada para fermentação durante 24 h. Ao término desse período, a mistura fermentada probiótica foi aplicada na concentração de 1,25 L/m³ em cada um dos 32 tanques experimentais (Figura 04).

Figura 04 – Fertilização nos tanques dos tratamentos BM, FA, FM e FMA.



Fonte: Autoria própria

3.4 Protocolo de Ativação do Probiótico e Fermentação

O probiótico ativado, submetido ou não a uma mistura fermentada, foi aplicado diariamente durante o período experimental em todos os tratamentos, com exceção do CTL. Para isso, primeiramente se realizava a ativação do probiótico comercial, onde 1,6 g de BM-PRO[®] foi misturado em 80 mL de água doce, mantido em repouso por 2 h, sem aeração. Essa quantidade foi preparada para oito tanques, equivalente a uma aplicação diária de 10 mL/m³. O probiótico ativado (BM) não submetido a fermentação com fontes de carbono foi aplicado diariamente no tratamento BM e nas segundas, terças e quintas-feiras nos tratamentos FA, FM e FMA com o intuito de manter estável a comunidade de bactérias probióticas.

O probiótico ativado e submetido a fermentação com suas respectivas fontes de carbono foi aplicado duas vezes semanais nos tratamentos FA, FM e FMA. A ativação e fermentação sempre ocorria nas segundas e quartas-feiras, com

aplicações 48 h depois, ou seja, nas quartas e sextas-feiras, respectivamente (Quadro 02). Após a preparação, a mistura fermentada probiótica foi aplicada na proporção de 29, 26 e 31 mL/m³, respectivamente, sempre às 13:00 h. No caso dos tanques CTL, apenas o melaço de cana-de-açúcar foi aplicado todos os dias na proporção de 2 g/m³.

Quadro 02 - Preparo dos fermentados para aplicação nos tratamentos BM, FA, FM e FMA. As quantidades são dadas para cada tratamento consistindo de oito tanques de 1 m³ cada.

Tratamento	Ativação do probiótico (2 h)		Fermentação (48 h)	
	Composição	Aplicação	Composição	Aplicação
BM		Diário, 10 mL/m ³	-	-
FA			1,6 g de probiótico com 32 g de farelo de arroz e 200 mL de água doce	Quartas e sextas-feiras, 29 mL/m ³
FM	1,6 g de probiótico em 80 mL de água doce mantido em repouso	Segundas, terças e quintas-feiras, 10 mL/m ³	1,6 g de probiótico com 16 g de melaço de cana-de-açúcar e 200 mL de água doce	Quartas e sextas-feiras, 26 mL/m ³
FMA			1,6 g de probiótico com 32 g de farelo de arroz, 16 de melaço de cana-de-açúcar e 200 mL de água doce	Quartas e sextas-feiras, 31 mL/m ³

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.5 Povoamento, Alimentação e Manejo

Um total de 66.000 pós-larvas 10 (PL10) do camarão *Penaeus vannamei*, foram adquiridos de uma larvicultura comercial (Bomar, EBP – Empresa de Pescados Ltda., Cajueiro da Praia/PI). Os camarões foram transportados para o laboratório em 30/06/2023 por via terrestre em 10 sacos plásticos de 15 L sob a salinidade de 15 g/L e temperatura de 23°C. Ao chegarem, as PLs foram imediatamente submetidas a aclimação de temperatura por 30 min. Após a aclimação, os camarões foram liberados em seis tanques de 3.000 L sob a densidade de 4 PLs/L para quarentena. Uma amostra de cerca de 500 camarões vivos foi coletada e fixada em álcool etílico com pureza de 90-95% para avaliação sanitária no Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos (CEDECAM/Labomar/UFC, Fortaleza, CE). A amostra foi analisada para presença do vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) e vírus da mionecrose infecciosa (IMNV) por meio de análise qualitativa por qPCR em tempo real, utilizando os sistemas de detecção TaqMan Reagents® e a plataforma ABI 7500 (Applied Biosystems®, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, EUA). Os resultados de RT-PCR indicaram que a amostra estava livre para os vírus avaliados (Apêndice A).

Após sete dias de aclimação, um total de 56.984 PLs com um peso corporal médio de 18 mg foram contadas com um dispositivo inteligente portátil (XperCount2, XpertSea, Quebec, Canadá) e transferidas para 10 tanques retangulares (Sannet®, Sansuy S. A. Indústria de Plásticos, Embu, SP) medindo 3,0 x 2,0 x 1,5 m (C x L x A) sob a densidade de 0,63 PLs/L (5.698 PLs/tanque). Durante a fase de berçário, os camarões foram alimentados com uma ração comercial desintegrada para camarões, que continha 40% de proteína bruta (PB) e 8% de lipídeos totais. Após 21 dias de cultivo, os camarões foram capturados e transferidos para dois tanques de 1.000 L com uma rede fixada perto da superfície da água. Os animais foram classificados visualmente por tamanho, removendo camarões pequenos e grandes, para permitir pesos corporais mais homogêneos.

Os camarões foram contados em lotes de 30 indivíduos, transferidos para um balde com água salgada e pesados em uma balança de precisão de 0,01 g. Um total de 4.800 camarões com $0,86 \pm 0,06$ g (CV 7,3%, 0,77-1,02 g; $P > 0,05$, Análise de Variância Univariada) foram transferidos para 40 tanques circulares de 1 m³ sob a densidade de 120 camarões/tanque ou 117 camarões/m².

Os camarões foram alimentados quatro vezes ao dia, exclusivamente em bandejas de alimentação com 14,3 cm de diâmetro e bordas com 3,5 cm de altura. As bandejas foram instaladas no meio do fundo de cada tanque a uma densidade de uma unidade por tanque. A ração foi ofertada diariamente nos seguintes horários: 1^a refeição: 08:00 h; 2^a refeição: 11:00 h; 3^a refeição: 14:00 h, e; 4^a refeição: 16:00 h. A refeição diária foi dividida na proporção de 25, 15, 15 e 45% no 1^o, 2^o, 3^o e 4^o horários de alimentação, respectivamente.

Na primeira semana de cultivo, os camarões foram alimentados com uma ração desintegrada com 40% de PB (Density 40, Neovia Nutrição e Saúde Animal Ltda., São Lourenço da Mata, PE) e, em seguida, uma ração peletizada com 35% de PB (Camanutri 35, Neovia Nutrição e Saúde Animal Ltda., São Lourenço da Mata, PE). As refeições foram ajustadas diariamente, inicialmente assumindo um ganho de peso estimado de 80 mg/dia/camarão e uma queda diária de 0,21% na população de camarões. Após a primeira semana, as refeições diárias foram calculadas seguindo uma tabela de alimentação, projetada para atingir um fator de conversão alimentar (FCA) máximo de 1,5 assumindo uma sobrevivência final de 86,15% e uma taxa de crescimento de 1,0 g semanal (Tabela 02).

Tabela 02 – Tabela de alimentação empregada no estudo.

Peso Corporal (g)		Taxa Alimentar (% do peso corporal)	Ganho de Peso (mg/dia)	Dias de Cultivo		Sobrevivência (%)
Inicial	Final			Inicial	Final	
0,80	1,00	6,80	80	1	7	99,38
1,00	2,00	5,60	90	8	15	97,81
2,00	3,00	4,65	100	16	23	96,15
3,00	4,00	4,08	110	24	31	94,48
4,00	5,00	3,70	120	32	39	92,81
5,00	6,00	3,42	130	40	47	91,15
6,00	7,00	3,21	140	48	55	89,48
7,00	8,00	3,04	150	56	63	87,81
8,00	9,00	2,90	160	-	-	86,15
9,00	10,00	2,78	-	-	-	-
10,00	11,00	2,68	-	-	-	-
11,00	12,00	2,58	-	-	-	-
12,00	13,00	2,86	-	-	-	-

Fonte: Elaborada pelo autor.

As bandejas de alimentação foram inspecionadas diariamente para verificar a presença de animais mortos que foram coletados e descartados. Os animais mortos não foram repostos durante todo o cultivo. Quinzenalmente, um total de cinco camarões por tanque foram capturados, pesados e devolvidos para seus respectivos tanques. Esses dados foram utilizados para ajustar a tabela de alimentação.

3.6 Análise dos Parâmetros de Qualidade de Água

A salinidade, pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram analisados diariamente (com exceção dos domingos) em todos os tanques de cultivo às 13:00 h. A alcalinidade da água foi analisada sempre aos domingos, escolhendo de forma aleatória um tanque de cultivo de cada tratamento experimental. Da mesma forma, os compostos nitrogenados, nitrito, nitrato e amônia total foram analisados na água de quatro tanques experimentais por tratamento, uma vez por semana. Os sólidos sedimentáveis (SS) foram medidos a cada dois dias em dois tanques por tratamento experimental utilizando cones Imhoff de 1 L de acordo com a metodologia padronizada por Rice *et al.* (2012). Os equipamentos utilizados para aferição dos parâmetros físico-químicos estão descritos no Quadro 03.

Quadro 03 – Equipamentos empregados para a medição dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo.

PARÂMETROS	EQUIPAMENTO DE MEDIÇÃO
Salinidade	HI-98319 Salinity Tester
pH	HI98107 pHep®
Temperatura	HI-98319 Salinity Tester
Oxigênio dissolvido	YSI model 550A Dissolved Oxygen Meter
Alcalinidade	The HI755 Checker®HC (Handheld Colorimeter)
Amônia total	API® AMMONIA TEST KIT
Nitrito	API® NITRITE TEST KIT
Nitrato	API® NITRATE TEST KIT
Sólidos sedimentáveis	Cone de Imhoff em SAN (Estireno Acrilonitrila) J.Prolab

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.7 Desempenho Zootécnico e Diagnóstico de Enfermidades

Os camarões foram cultivados por 65 dias. Na despesca, todos os camarões vivos foram coletados, contados e pesados individualmente com uma balança eletrônica de precisão. Na despesca, cada indivíduo foi contado e pesado usando uma balança eletrônica de precisão (Ohaus Adventurer, modelo ARA520, Toledo do Brasil Indústria de Balanças Ltda., São Bernardo do Campo, SP).

Com esses dados determinou-se os seguintes parâmetros zootécnicos:

- (1) sobrevivência final (%) = $(\text{número de camarões despescados} \div \text{número de camarões estocados}) \times 100$;
- (2) Crescimento semanal (g/semana) = $(\text{peso corporal final} - \text{peso corporal inicial}) \div \text{número de dias de cultivo} \times 7$;
- (3) Ganho de biomassa (g) = biomassa final – biomassa inicial;
- (4) Ganho de produtividade (g/m²) = $\text{ganho total de biomassa por tanque} \div \text{área de fundo do tanque}$;
- (5) Fator de conversão alimentar (FCA) = $\text{consumo de ração aparente por tanque} \div \text{ganho de biomassa por tanque}$.

Os pleópodos de camarões vivos de cada tratamento experimental foram coletados para análise de RT-PCR no CEDECAM de acordo com os procedimentos descritos por AMOS (1985). A análise buscou identificar e quantificar a presença dos seguintes vírus: WSS, IMN e IHHN. O método adotado foi o mesmo descrito na seção 3.5.

3.8 Análise Microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas com 15 e 60 dias após o povoamento durante o período do estudo de desempenho zootécnico. Amostras de 100 mL de água de cultivo de cada tratamento foram coletadas em frasco estéreis, armazenadas em isopor e levadas para o Laboratório de Microbiologia da empresa Biotrends Soluções Biotecnológicas, localizada no município do Eusébio, Ceará, para quantificação de bactérias heterotróficas totais, *Lactobacillus* spp., leveduras e *Vibrio* spp. (Figura 05).

Figura 05 - Amostras coletadas para análise microbiológica.



Fonte: Autoria própria (2024)

Para as análises, alíquotas de 1 mL das amostras foram diluídas seriadamente de forma decimal em solução salina 0,9 % (m/v). Em seguida, alíquotas de 100 μ L das diluições foram inoculadas na superfície de meios de cultura e distribuídas uniformemente pela técnica de espalhamento em placa (*spread plate*). Foram utilizados os seguintes meios específicos: ATGE (Ágar Triptona, Glicose e Extrato de Levedura) para a contagem de bactérias heterotróficas totais; AMRS (Ágar de Man, Rogosa e Sharpe) para a contagem de bactérias ácido-lácticas, AS (Ágar *Sabouraud*) para a contagem de leveduras totais e TCBS ágar (Ágar Tiosulfato, Citrato, BÍlis e Sacarose) para a contagem de *Vibrio* spp. O antifúngico nistatina foi incorporado aos meios ATGE e AMRS para inibição de crescimento de leveduras e ao meio AS incorporou-se o antibiótico tetraciclina para impedir o crescimento de bactérias. Cada análise foi realizada em triplicata. As placas foram incubadas a 35°C por 24/48 h, as colônias foram contadas e os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL de amostra.

3.9 Análise Estatística

As análises estatísticas do experimento de desempenho zootécnico foram realizadas usando o programa estatístico IBM® SPSS® Statistics 23.0 (SPSS Inc., Chicago, EUA). Análises univariadas (One-Way ANOVA) foram aplicadas para determinar as diferenças nos seguintes parâmetros entre os tratamentos dietéticos: sobrevivência final, crescimento, produtividade, peso corporal final e FCA; parâmetros de qualidade de água (pH, salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido, alcalinidade, amônia total, nitrito e nitrato). Quando observadas diferenças significativas, foi aplicado o teste *a posteriori* de Duncan para comparar os valores médios entre dois tratamentos individuais. O nível de significância foi fixado em 5% (valor-p < 0,05).

As análises estatísticas dos experimentos microbiológicos foram realizadas utilizando o programa Past 4.03. Foram usadas análises univariadas (One-Way ANOVA) para avaliar se ocorreu diferença significativa entre os tratamentos em cada grupo de microrganismo (heterotróficos totais, lactobacilos, leveduras e víbrios) e em cada um dos monitoramentos. Os resultados significativos foram avaliados pelo teste de Tukey com 5% de significância (valor- $p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise da Presença e Carga Viral nos Camarões Despescados

A análise de RT-PCR realizada nos camarões despescados submetidos aos diferentes tratamentos mostrou a ausência dos vírus WSS e IHHN. Porém, os camarões de todos os tratamentos, inclusive o CTL, apresentavam-se infectados pelo vírus IMN em diferentes graus (Apêndice B). Esse resultado pode estar relacionado à grande difusão deste vírus no Nordeste do Brasil (FEIJÓ *et al.*, 2013). A carga viral absoluta do IMNV foi de $15.480,67 \pm 508,13$, $19.838 \pm 214,11$, $16.614 \pm 747,81$, 9.240 ± 699 e $10.996,67 \pm 924,18$ cópias virais/ μg de RNA para os tratamentos CTL, BM, FA, FM e FMA, respectivamente. Muito embora os dados não permitam realizar uma comparação estatística, a carga viral dos camarões submetidos ao tratamento FM mostrou-se mais baixa comparado aos demais. As maiores cargas virais foram observadas nos camarões sob o BM, FA e CTL, seguido do FMA, este último apresentando uma carga viral próxima dos camarões sob o tratamento FM.

Muito embora as PLs adquiridas não apresentavam contaminação do vírus IMN, os animais podem ter sido infectados durante a fase de berçário realizada no laboratório ou através da água ou instalações de cultivo. Sabe-se que a infecção pelo vírus IMN pode ocorrer de forma vertical e (ou) horizontal (GRAF *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2016). Entretanto, durante o período experimental, buscou-se a exclusão viral mediante a higienização e desinfecção dos apetrechos e instalações de cultivo, além da água de cultivo, portanto, essa rota de infecção é menos provável. Através dos resultados de RT-PCR apresentados pelo CEDECAM/LABOMAR/UFC observou-se que no primeiro laudo o *primer* empregado nas análises foi o preconizado pela WOA (Organização Mundial para Saúde Animal) para detecção de variantes do IMNV mais antigas (POULOS *et al.*, 2006; TANG *et al.*, 2008). Já no laudo final fornecido pelo laboratório, enquanto a análise com uso desse *primer* mostrou-se novamente negativo para a presença do IMNV, uma adaptação do mesmo, indicou sua presença. Assim, pode-se assumir, que as PLs adquiridas já apresentavam contaminação pelo IMNV, muito embora sua infecção ou um aumento da carga viral durante o cultivo em condições controladas também não pode ser descartada.

Andrade *et al.* (2022) reportaram a presença de uma nova variante do IMN na região Nordeste do Brasil. Os autores realizaram o sequenciamento genético de

amostras de camarões com sinais clínicos do IMNV coletados de fazendas de cultivo localizadas nos Estados do Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Alagoas, Sergipe e Bahia. Segundo os resultados, as análises mostraram a presença de uma nova cepa de IMNV com uma grande similaridade com a cepa do IMNV encontrada na Indonésia (particularmente a cepa EF061744.1). Portanto, sugere-se que o *primer* originalmente empregado para a análise de RT-PCR não foi capaz de detectar a presença do IMN nas PLs por se tratar de uma nova cepa do vírus, podendo gerar até mesmo subnotificações.

Santos (2022) identificou que os *primers* sugeridos pela OIE/WOAH já não conseguem se alinhar com as diversas sequências de RNA do vírus IMN gerando resultados falso negativos no RT-PCR. De acordo com o autor, somente é possível identificar as novas variantes desse vírus se os *primers* utilizados no RT-PCR sofrerem uma modificação para compatibilizar-se com o genoma do IMNV encontrada na região de sua ocorrência.

A presença do IMNV nos camarões utilizados no estudo introduziu uma nova variável experimental no mesmo, não originalmente planejada. Porém, a presença do vírus nos camarões despescados mostrou-se como um importante fator na avaliação da efetividade dos diferentes tratamentos experimentais. Dado ao fato de os camarões terem sido planejadamente submetidos a uma alta densidade de cultivo, isso pode ter agido como gatilho para a ação do IMNV sobre os camarões, possivelmente, ocasionando estresse e alta mortalidade. Entretanto, outros agentes infecciosos, como *Vibrio* spp., podem também ter impacto negativamente a sobrevivência dos camarões.

4.2 Desempenho Zootécnico

No início do experimento os camarões cultivados apresentaram uma média de peso corporal (\pm desvio padrão) de $0,86 \pm 0,03$ g, não apresentando diferença estatística entre os tratamentos ($p > 0,05$; Tabela 03). No entanto, o peso corporal final dos animais foi superior nos tanques CTL e FMA correspondendo a $7,28 \pm 0,69$ g e $7,86 \pm 1,29$ g, respectivamente (Tabela 03). Ao término do cultivo, o crescimento (g/semana) dos camarões apresentou um comportamento semelhante ao peso corporal final, com os camarões sob os tratamentos CTL e FMA alcançando médias de $0,64 \pm 0,07$ e $0,70 \pm 0,13$, respectivamente, superiores aos demais tratamentos.

Sabry-Neto & Nunes (2015) em condições experimentais próximas as utilizadas no presente estudo (peso inicial = $2,6 \pm 0,4$ g, densidade de estocagem = 100 camarões/m²), utilizando camarões contaminados em laboratório com o IMNV, reportaram um crescimento médio semanal entre 0,56 e 0,77 g e sobrevivência entre 23,2 e 69,5% após 70 dias de cultivo. Os resultados de crescimento são semelhantes com os obtidos alcançados no presente estudo, respeitando-se a sobrevivência final que no presente estudo foi superior.

Tabela 03 – Desempenho zootécnico (média \pm desvio padrão) de juvenis do camarão *P. vannamei* ao término do cultivo. Os camarões foram cultivados por 65 dias sob a densidade de 117 animais/m². Os valores médios foram obtidos de sete tanques de cultivo. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste *a posteriori* de Duncan.

Parâmetros	Tratamentos				
	CTL	BM	FA	FM	FMA
Sobrevivência (%)	46,1 \pm 8,8a	62,8 \pm 16,4bc	65,7 \pm 19,7c	88,3 \pm 8,0d	49,8 \pm 8,8ab
Peso Corporal Inicial (g)	0,86 \pm 0,01a	0,85 \pm 0,02a	0,85 \pm 0,03a	0,88 \pm 0,04a	0,87 \pm 0,03a
Peso Corporal Final (g)	7,28 \pm 0,69bc	6,65 \pm 0,73ab	5,96 \pm 0,77a	5,94 \pm 0,54a	7,86 \pm 1,29c
Crescimento (g/semana)	0,64 \pm 0,07bc	0,58 \pm 0,07ab	0,51 \pm 0,08a	0,51 \pm 0,05a	0,70 \pm 0,13c
Produtividade (g/m ²)	291 \pm 72a	382 \pm 100a	356 \pm 136a	515 \pm 99b	356 \pm 95a
FCA	3,35 \pm 0,74c	2,56 \pm 0,65ab	2,74 \pm 0,88bc	1,96 \pm 0,26a	3,01 \pm 0,49bc

Fonte: Elaborada pelo autor.

No presente estudo, o peso corporal e crescimento semanal dos camarões apresentaram uma relação inversamente proporcional com a sobrevivência final. Os tratamentos CTL e FMA com os maiores valores de peso corporal ($7,28 \pm 0,69$ e $7,86 \pm 1,29$ g, respectivamente) e crescimento ($0,64 \pm 0,07$ e $0,70 \pm 0,13$ g, respectivamente) foram os que apresentaram a menor sobrevivência final, da ordem de $46,1 \pm 8,8$ e $49,8 \pm 8,8\%$, respectivamente (Tabela 03). Comparativamente, os tratamentos FM ($88,3 \pm 8,0\%$), seguido do FA ($65,7 \pm 19,7\%$) e BM ($62,8 \pm 16,4\%$) foram os que proporcionaram uma maior sobrevivência final dos camarões, levando a

um peso corporal mais baixo, de $5,94 \pm 0,54$, $5,96 \pm 0,77$ e $6,65 \pm 0,73$ g, respectivamente.

Essa relação inversamente proporcional entre peso corporal e sobrevivência final é relatado em diversos trabalhos com camarões cultivados (CASTRO, 2007; COSTA, 2012; FERREIRA, 2009; PRETO *et al.*, 2005). Sob condições de mortalidade de camarões ocasionadas por doenças, o crescimento dos animais não moribundos é geralmente favorecido pela maior área de cultivo disponível e (ou) maior disponibilidade de alimento, seja camarões mortos que são inevitavelmente consumidos ou por uma oferta de ração que não contabiliza a perda de biomassa. Essas duas condições foram atendidas no presente estudo. Houve dificuldade na visualização de camarões mortos no fundo dos tanques devido à baixa transparência da água. Portanto, apenas camarões encontrados mortos em bandejas de alimentação foram contabilizados. Embora a oferta de ração tenha sido ajustada durante o cultivo para atender essa perda de biomassa, as estimativas não foram a contento, devido a mortalidades não contabilizadas. Essa mesma dificuldade é comum em fazendas de cultivo impactadas pelo IMNV que tem como característica principal uma mortalidade de camarões diária, baixa, porém persistente durante todas as etapas de engorda, levando a uma baixa sobrevivência e incremento no peso corporal final e FCA (NUNES *et al.*, 2004).

A mortalidade dos camarões observada no presente estudo teve como uma das causas principais a ação do IMNV. De acordo com TANG *et al.* (2005) a doença causada pelo IMNV resulta em uma mortalidade contínua dos camarões durante todo o cultivo alcançando valores finais entre 40 e 60%. No entanto, Andrade *et al.* (2022) em um estudo recente com novas variantes do IMNV apontou mortalidades de até 80%. Frente aos dados relatados na literatura, a sobrevivência final observada para os camarões sob o tratamento FM ($88,3 \pm 8,0\%$) apresentou-se muito expressiva.

A coinfeção de camarões com IMNV e *Vibrio* spp. é comumente observada em fazendas de carcinicultura da Região Nordeste. O *Vibrio harveyi*, por exemplo, age como uma infecção secundária, frequentemente manifestando uma condição clínica externa de luminescência no leque caudal dos camarões, denominada de bioluminescência (VALENTE; WAN, 2021). É possível que no presente estudo os tratamentos que resultaram em uma maior sobrevivência dos camarões tenham sido favorecidos pela ação inibidora das bactérias probióticas sobre os vírios. Oktaviana *et al.* (2014) infectaram camarões *P. vannamei* de 0,3 g com o vírus IMNV e com o *V.*

harveyi. Os camarões haviam sido alimentados por 30 dias antes da infecção com uma dieta suplementada com um simbiótico consistindo de um probiótico do *Vibrio alginolitycus* SKT-bR e prebióticos oligossacarídeos da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.), com frequência de aplicação diária (P1), duas vezes (P2) e uma vez na semana (P3). Os autores reportaram um efeito positivo na sobrevivência final dos camarões pós desafio alimentado com o simbiótico (93,33, 80,00 e 73,33%, respectivamente), comparado com o controle (46,67%), sem suplementação do simbiótico.

Os resultados de sobrevivência final do presente estudo também refletiram diretamente no ganho de produtividade dos camarões e FCA. A produtividade caiu de 515 ± 99 g/m² sob o tratamento FM para entre 291 ± 72 e 382 ± 100 g/m² sob os tratamentos CTL e BM, respectivamente. Portanto, esses resultados evidenciam o efeito da aplicação do fermentado de melaço de cana-de-açúcar e probiótico sobre os parâmetros zootécnicos dos camarões. No entanto, a aplicação isolada do melaço de cana-de-açúcar (CTL) mostrou-se pouco efetiva na melhoria do desempenho zootécnico do *P. vannamei*. Lima (2007) analisando diversas concentrações de melaço na água de cultivo não observou diferenças estatísticas entre os tratamentos na sobrevivência final e produtividade dos camarões. Portanto muito embora o melaço atue como uma importante fonte de carbono orgânico para comunidade bacteriana, seu uso isolado parece não ter efeito positivo direto sobre a saúde dos camarões.

O Fator de Conversão Alimentar (FCA) nos tanques FM também obteve o valor mais baixo registrado de $1,96 \pm 0,26$, com os tanques CTL obtendo os maiores valores tendo como média $3,35 \pm 0,74$. Os valores de FCA encontrados nesse estudo são considerados elevados se comparados com os demais trabalhos com o *P. vannamei* sem infecção com o IMNV (SANTOS, 2019; MAIA *et al.*, 2012). Dessa forma, os altos valores de FCA mostram-se diretamente relacionados com a alta mortalidade que ocorreu durante o cultivo devido ao vírus IMN.

4.3 Parâmetros Físico-químicos de Qualidade de Água

Os parâmetros físico-químicos de qualidade de água mantiveram-se dentro de intervalos considerados adequados para o cultivo do *P. vannamei* (SÁ, 2023). A temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido apresentaram médias de $27,5 \pm 0,5$ °C, $16,2 \pm 0,8$ ppt e $8,0 \pm 0,1$, respectivamente. A faixa de temperatura confortável para o crescimento de *P. vannamei* é entre 26 e 33°C (NUNES, 2002). Souza (2014)

observou em um cultivo intensivo que a temperatura ideal de crescimento do *P. vannamei* é de 28°C. Soares et al. (2012) estudando o efeito da temperatura no cultivo do *Penaeus paulensis* identificou que não há mortalidade no cultivo do peneídeo em temperaturas entre 32 e 34°C. Entretanto o LC 50 demonstrou estar compreendido na faixa de 35°C. Portanto, durante todo o cultivo realizado nesse trabalho a temperatura se manteve muito estável e dentro dos padrões ótimos de crescimento estabelecidos para a espécie e outros peneídeos.

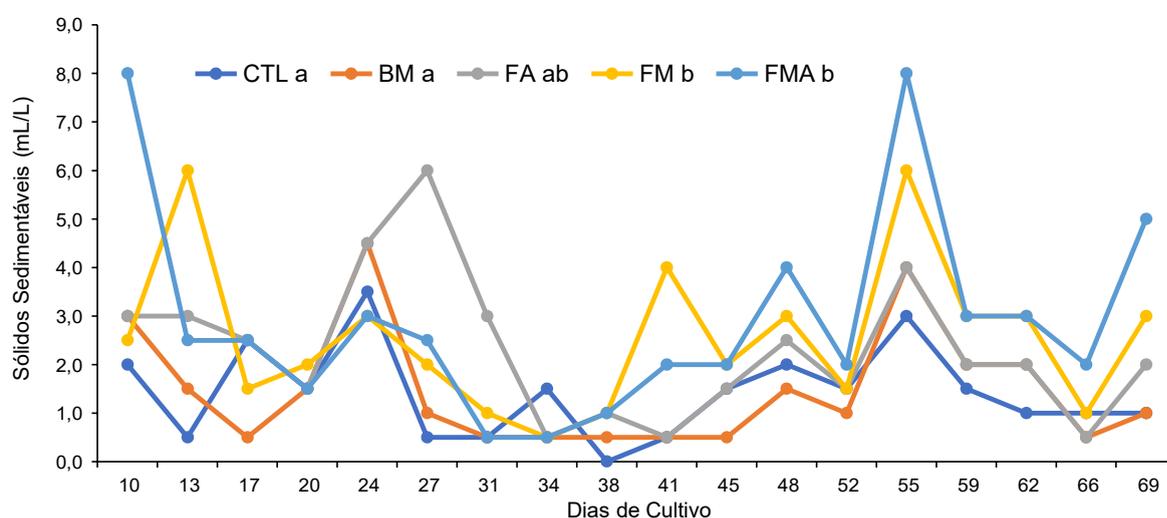
De acordo com Boyd (1979), o pH ideal para o crescimento máximo de animais marinhos como o *P. vannamei* está na faixa entre 7,5 e 8,5. Logo, os valores de pH encontrados nesse estudo mantiveram-se dentro dos níveis ótimos durante todo o cultivo. Lima (2011) identificou um maior ganho de peso para o *P. vannamei* quando cultivado em salinidade de 33 ppt em comparação ao cultivo em 18 ppt. De acordo com Sá (2023), o camarão marinho *P. vannamei* tem seu crescimento maximizado quando cultivado entre 15 e 30 ppt. Mejia (2022) em condições de densidade semelhantes ao utilizado nesse estudo, mas com ausência do IMNV observou que a salinidade de 45 ppt não causava mortalidade nos camarões cultivados, porém houve uma redução na taxa de crescimento dos animais. Diante do exposto, a estabilidade da salinidade durante o cultivo na faixa de 16 ppt se configura dentro da faixa ideal de crescimento, não causando prejuízo no crescimento devido ao gasto energético excessivo com osmoregulação.

O oxigênio dissolvido (OD) apresentou valor máximo de 8,9 mg/L (CTL) e mínimo de 4,8 mg/L (FA). As médias (\pm desvio padrão) alcançaram $6,36 \pm 0,70$, $6,31 \pm 0,61$, $6,32 \pm 0,62$, $6,48 \pm 0,66$ e $6,64 \pm 0,70$ mg/L para os tratamentos CTL, BM, FA, FM e FMA, respectivamente. Segundo Boyd & Tucker (1998), a faixa ideal de OD para um bom crescimento e integridade imunológica de camarões e peixes tropicais está compreendida entre 4 a 15 mg/L. Dessa forma, os valores obtidos neste trabalho condizem com o padrão adequado para a espécie.

Os sólidos sedimentáveis (SS) da água de cultivo apresentaram diferença estatística entre os fermentados probióticos aplicados ($p \leq 0,05$; Gráfico 03). Os tratamentos submetidos a aplicação dos fermentados probióticos FA, FM e FMA apresentaram valores médios de SS superiores ao CTL e tratamento BM. É possível que a fermentação com o uso do probiótico com melação de cana-de-açúcar e (ou) farelo de arroz tenha favorecido valores mais elevados de SS. As quantidades desses insumos aplicados nos tanques experimentais foram também mais elevados do que

os utilizados no CTL e BM, esses com o uso isolado do probiótico ou melaço. Os valores de SS encontrados nesse estudo estão abaixo dos valores máximos de 15 mL/L sugeridos para maximizar o desempenho zootécnico de camarões marinhos (TAW, 2012). Avnimelech (2009) recomendou valores de SS entre 20 e 40 mL/L em sistemas de cultivo dominados por bioflocos. O SS representa uma leitura indireta da concentração de flocos microbianos na água de cultivo e, portanto, podem desempenhar uma função estratégica na remineralização de matéria orgânica e nitrificação.

Gráfico 03 – Dinâmica dos sólidos sedimentáveis (mL/L) em função dos dias de cultivo e fermentados probiótico aplicados. Cada ponto representa a média das leituras da água de cultivo de dois tanques realizadas com um cone de Imhoof de cada tratamento experimental. Letras em comum indicam diferença não estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Duncan.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Houve também variações nos valores de SS ao longo do período experimental. Essas variações podem ser atribuídas ao regime de troca parcial de água, realizada semanalmente em todos os tanques de cultivo. Portanto, os aumentos e decréscimos sucessivos de SS observados coincidem com os intervalos entre as trocas de água.

Os valores médios de alcalinidade na água de cultivo não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos experimentais. Os valores mínimos e máximos observados para alcalinidade foram de 128 mg/L CaCO_3 (FMA) e 179 mg/L CaCO_3 (FM). Os valores de alcalinidade recomendados para

carcinicultura marinha variam entre 80 e 300 mg/L CaCO₃. Esses intervalos são considerados adequados por promovem o tamponamento do pH da água e o aumento da produtividade primária (SÁ, 2023). Vale destacar que durante o cultivo a alcalinidade foi corrigida com aplicações de bicarbonato de sódio, afim de mantê-la em valores próximos a 150 mg/L CaCO₃. Desta forma, os níveis de alcalinidade se mantiveram ótimos durante todo o cultivo.

Dentre os compostos nitrogenados analisados, a amônia total nitrogenada não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos ($P>0,05$; Tabela 04). Foram observados valores entre 0 a 1 mg/L. Os valores mínimo e máximos de nitrito e nitrato foram de 0,75 e 5 mg/L e 0,25 e 80 mg/L, respectivamente.

Tabela 04 – Compostos nitrogenados e alcalinidade no cultivo do camarão marinho *Penaeus vannamei* durante o experimento em cada tratamento. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($P<0,05$) de acordo com o teste a *posteriori* de Duncan.

Parâmetros	Tratamentos				
	CTL	BM	FA	FM	FMA
Alcalinidade Total (mg/L CaCO ₃)	151,22±11,06a	152,22±7,27a	155,00±12,57a	153,89±12,39a	152,89±12,19a
Amônia Total (mg/L)	0,35±0,30a	0,36±0,28a	0,38±0,34a	0,32±0,33a	0,42±0,26a
Nitrito (mg/L)	3,97±1,27b	3,18±1,52ab	3,22±1,72ab	2,71±1,47a	3,74±1,26b
Nitrato (mg/L)	38,36±23,61d	29,75±21,87cd	23,22±11,47bc	14,44±11,44ab	11,94±6,40a

Fonte: Elaborada pelo autor.

A amônia é incorporada nos sistemas aquáticos de cultivo através da excreção dos animais e de ração não consumida, sendo eliminada por meio da decomposição e mineralização bacteriana (COSTA et al., 2008). As mortalidades relacionadas com a amônia geralmente estão associadas a amônia não ionizada (NH₃). Nesse experimento, a concentração máxima estimada de amônia não ionizada foi de 0,02 mg/L, exceto para o FMA que obteve o resultado de 0,03 mg/L. Ambos valores estão dentro dos valores aceitáveis para organismos aquáticos cultivados (SÁ, 2023).

Segundo Sá (2023), o nitrito é um composto menos tóxico aos animais cultivados quando mantidos em água salgada. Isso ocorre devido ao gradiente de concentração entre os íons Cl^- e N-NO_2^- na água. Se houver grandes quantidades de Cl^- disponível na água, a absorção branquial de nitrito é insignificante. Pereira et al. (2022), estudaram os efeitos da toxicidade do nitrito em águas com 15 ppt de salinidade e concluiu que a concentração ideal de nitrito é abaixo de 6,1 mg/L. Durante o cultivo, o nitrito se manteve dentro dos padrões ideais para o cultivo de camarões em todos os tanques. Entretanto, vale destacar que o CTL, que não utilizou probiótico, apresentou valores mais elevados de nitrito. Portanto, esse resultado sugere um efeito positivo do probiótico sobre a diminuição desse composto nitrogenado.

Alves Neto et al. (2022) estudando o efeito da toxicidade do nitrato para organismos aquáticos identificaram que o LC-50 para o nitrato em águas de salinidade de 5 ppt se estabeleceu próximo a 500 mg/L. Ao submeter os animais em águas com concentração superiores de salinidade (10 ppt) os autores perceberam uma regressão linear na mortalidade dos camarões. Pereira et al. (2022) em cultivo com salinidade de 11 ppt identificaram que os valores ideais de nitrato no cultivo devem sempre se manterem abaixo de 220 mg/L. Portanto, os níveis de nitrato encontrados no experimento estão dentro da faixa ideal para o cultivo de camarão marinho.

4.4 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas de bactérias heterotróficas totais, *Lactobacillus* spp., *Vibrio* spp. e leveduras no período de 15 e 60 dias de cultivo na condição controle (CTL), tratamento com probiótico (BM) e tratamentos utilizando fermentados de probiótico com farelo de arroz (FA), probiótico com melação de cana-de-açúcar (FM) e probiótico com farelo de arroz e melação de cana-de-açúcar (FMA) podem ser observadas na Tabela 05.

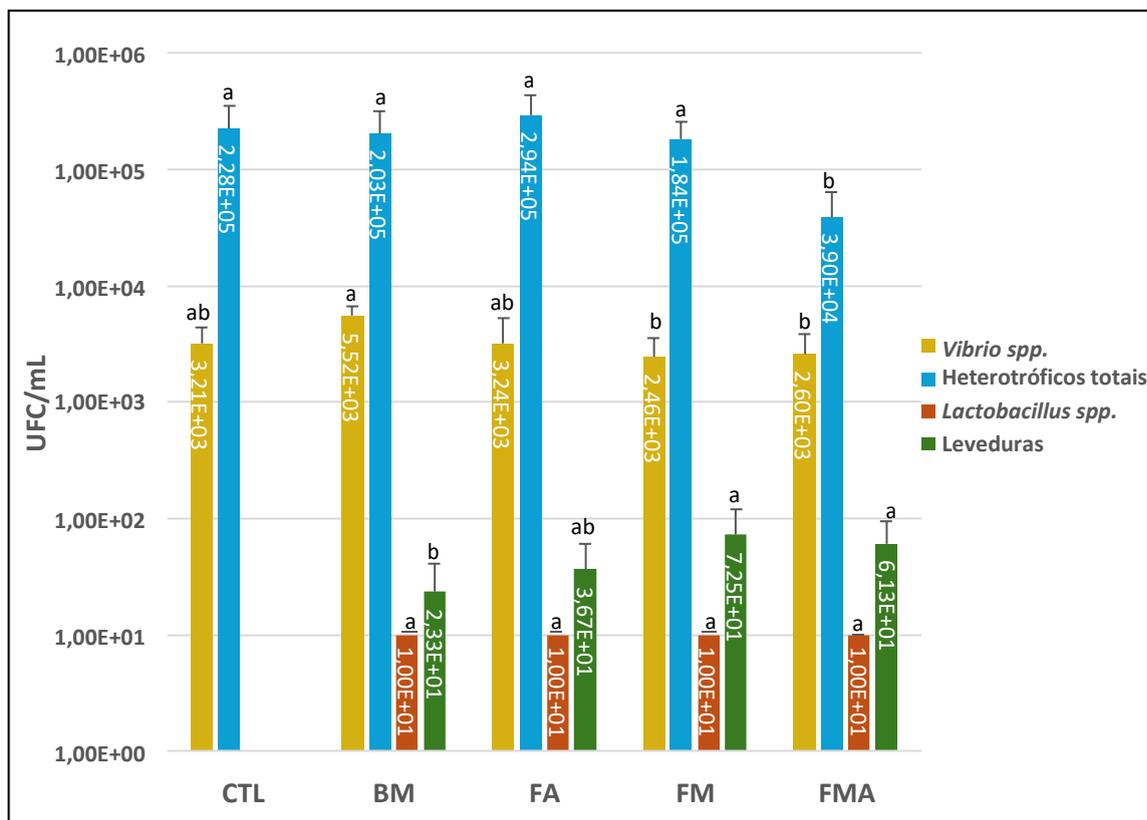
Tabela 05 - Valores das quantificações de bactérias heterotróficas totais, *Lactobacillus* spp., *Vibrio* spp. e de leveduras nas diferentes condições experimentais com 15 e 60 dias de cultivo. Letras diferentes no mesmo grupo de microrganismos indicam diferenças estatísticas por One-Way ANOVA com teste de Tukey (valor-p < 0,05).

	15 dias				
	CTL	BM	FA	FM	FMA
<i>Vibrio</i> spp.	3,21x10 ³ ± 1,23x10 ³ ab	5,52x10 ³ ± 1,10x10 ³ a	3,24x10 ³ ± 1,99x10 ³ ab	2,46x10 ³ ± 1,15x10 ³ b	2,60x10 ³ ± 1,27x10 ³ b
Heterotróficos totais	2,28x10 ⁵ ± 1,23x10 ⁵ a	2,03x10 ⁵ ± 1,19x10 ⁵ a	2,94x10 ⁵ ± 1,46x10 ⁵ a	1,84x10 ⁵ ± 7,62x10 ⁴ a	3,90x10 ⁴ ± 2,47x10 ⁴ b
<i>Lactobacillus</i> spp.	0,00x10 ⁰ b	1,00x10 ¹ ± 0,00x10 ⁰ a	1,00x10 ¹ ± 0,00x10 ⁰ a	1,00x10 ¹ ± 0,00x10 ⁰ a	1,00x10 ¹ ± 0,00x10 ⁰ a
Leveduras	0,00 x10 ⁰ c	2,33x10 ¹ ± 1,75x10 ¹ b	3,67x10 ¹ ± 2,42x10 ¹ ab	7,25x10 ¹ ± 4,74x10 ¹ a	6,13x10 ¹ ± 3,40x10 ¹ a
	60 dias				
	CTL	BM	FA	FM	FMA
<i>Vibrio</i> spp.	2,67x10 ³ ± 1,49x10 ³ a	9,38x10 ² ± 3,50x10 ² b	6,76x10 ² ± 3,58x10 ² b	2,72x10 ² ± 7,77x10 ¹ c	1,60x10 ³ ± 3,61x10 ² a
Heterotróficos totais	3,61x10 ² ± 1,56x10 ² b	2,63x10 ³ ± 8,06x10 ² a	3,17x10 ³ ± 5,46x10 ² a	2,93x10 ³ ± 9,69x10 ² a	2,61x10 ³ ± 6,40x10 ² a
<i>Lactobacillus</i> spp.	0,00x10 ⁰ d	2,00x10 ¹ ± 1,10x10 ¹ c	3,82x10 ³ ± 3,52x10 ² a	6,30x10 ² ± 1,99x10 ² b	3,48x10 ³ ± 1,65x10 ³ a
Leveduras	0,00x10 ⁰ c	5,33x10 ¹ ± 3,67x10 ¹ b	1,15x10 ² ± 5,36x10 ¹ a	8,86x10 ¹ ± 3,63x10 ¹ ab	1,12x10 ² ± 6,05x10 ¹ ab

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os resultados das análises microbiológicas no período de 15 dias de cultivo para bactérias heterotróficas totais, *Lactobacillus* spp., leveduras e *Vibrio* spp. podem ser observados a seguir (Gráfico 04).

Gráfico 04 – Contagens de *Vibrio* spp., bactérias heterotróficas totais, *Lactobacillus* spp. e leveduras após 15 dias de cultivo. Letras diferentes no mesmo grupo de microrganismos indicam diferença estatística por One-Way ANOVA com teste de Tukey (valor-p < 0,05).



As análises microbiológicas revelaram concentrações de bactérias heterotróficas totais na condição CTL de $2,28 \times 10^5$ UFC/mL e nos tratamentos BM, FA, FM e FMA de $2,03 \times 10^5$ UFC/mL, $2,94 \times 10^5$ UFC/mL, $1,84 \times 10^5$ UFC/mL e $3,90 \times 10^4$ UFC/mL, respectivamente.

As análises estatísticas demonstraram que as quantificações de bactérias heterotróficas totais são semelhantes entre todos os tratamentos, com exceção da condição FMA. A utilização de probióticos e/ou fontes de carbono influenciam no aumento do número de células microbianas na água de cultivo. Na condição CTL, ocorreu bioestímulo nas comunidades de microrganismos heterotróficos totais devido ao uso de melaço de cana-de-açúcar. Na condição BM, ocorreu bioaumento devido a aplicação de cultura probiótica e nas condições de probiótico com fermentado ocorreu tanto bioaumento como bioestímulo das comunidades microbianas. Foi observado que independente de ser realizado bioaumento, bioestímulo ou ambos, as cargas de bactérias heterotróficas totais foram similares numericamente. Apesar da semelhança

na carga de bactérias heterotróficas totais, a microbiota nas condições com probiótico e/ou probiótico com fermentado são compostas, principalmente, por microrganismos benéficos provenientes das culturas probióticas em associação com os microrganismos ambientais do cultivo, enquanto na condição controle os microrganismos heterotróficos são compostos exclusivamente pelos microrganismos ambientais.

Os grupos microbianos de *Lactobacillus* spp. e leveduras não foram detectados na condição CTL, sem adição de probiótico, com 15 dias de cultivo. Os tratamentos BM, FA, FM e FMA, que receberam cultura de probiótico e/ou probiótico com fermentado, apresentaram valores médios para *Lactobacillus* spp. de $1,00 \times 10^1$ UFC/g e valores para leveduras de $2,33 \times 10^1$ UFC/g, $3,67 \times 10^1$ UFC/g, $7,25 \times 10^1$ UFC/g e $6,13 \times 10^1$ UFC/g, respectivamente.

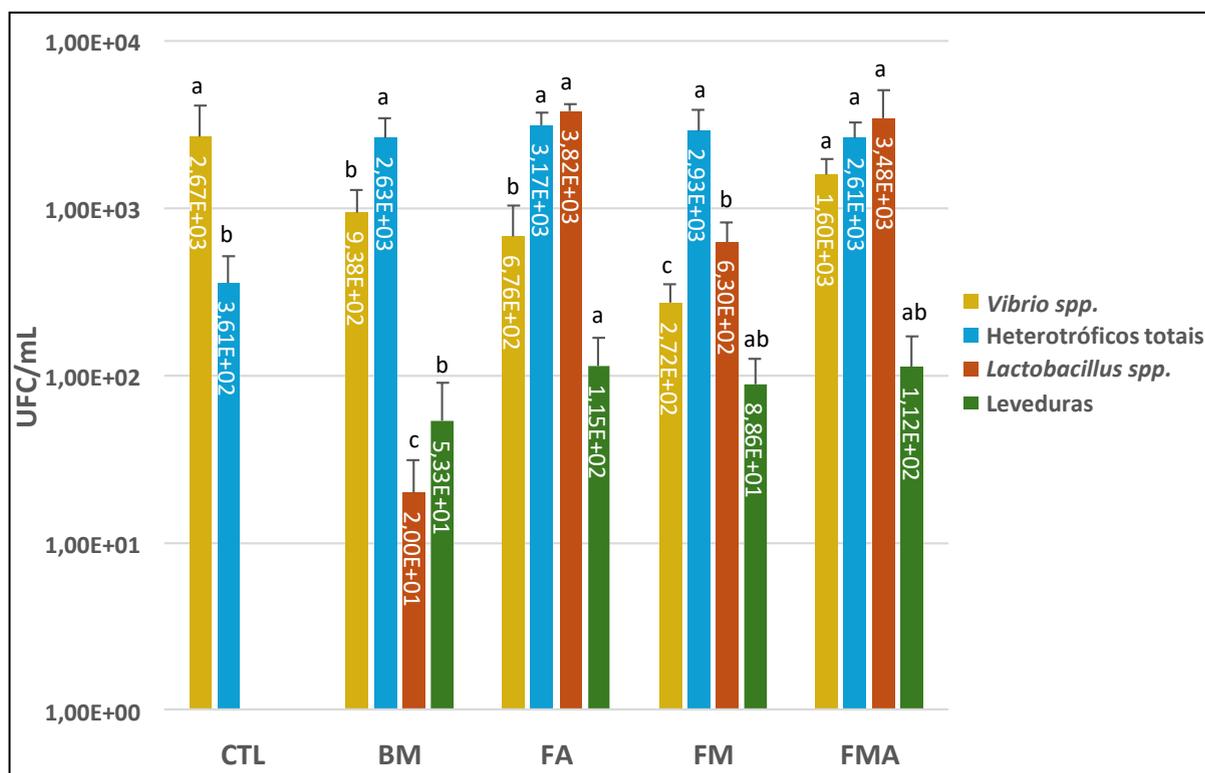
A presença de bactérias do gênero *Lactobacillus* e de leveduras é importante para a promoção da sanidade animal, pois estes microrganismos são produtores de ácidos orgânicos e/ou moléculas com atividade antimicrobiana que auxiliam no combate de patógenos. Adicionalmente, as leveduras possuem importância nutricional, são produtoras de vitaminas e possuem em sua parede celular moléculas de β -glucanas que auxiliam na modulação da imunidade, o que demonstra importância desses probióticos para os animais e os ambientes de cultivo (Popov et al., 2020).

As análises microbiológicas de *Vibrio* spp. com 15 dias de cultivo apresentaram valores na condição CTL de $3,21 \times 10^3$ UFC/mL e nos tratamentos BM, FA, FM e FMA de $5,52 \times 10^3$ UFC/mL, $3,24 \times 10^3$ UFC/mL, $2,46 \times 10^3$ UFC/mL e $2,60 \times 10^3$ UFC/mL, respectivamente. Pode-se observar que as concentrações de *Vibrio* spp. com 15 dias foram menores em relação às bactérias heterotróficas totais. Esta relação onde ocorre uma maior carga de microrganismos heterotróficos totais comparado aos vibrios é importante e pode auxiliar na inibição de *quorum sensing* patogênico.

O *quorum sensing* é um tipo de comunicação intercelular mediado por sinais químicos dependentes da densidade populacional que é usado por microrganismos para induzir um ataque ao hospedeiro, a formação de biofilme, a esporulação, dentre outras respostas celulares (Waters & Bassler, 2005).

Os resultados das análises microbiológicas no período de 60 dias de cultivo para bactérias heterotróficas totais, *Lactobacillus* spp., *Vibrio* spp. e leveduras estão apresentados a seguir (Gráfico 05).

Gráfico 05 – Contagens de *Vibrio* spp., bactérias heterotróficas totais, *Lactobacillus* spp. e leveduras após 60 dias de cultivo. Letras diferentes no mesmo grupo de microrganismos indicam diferença estatística por One-Way ANOVA com teste de Tukey (valor-p < 0,05).



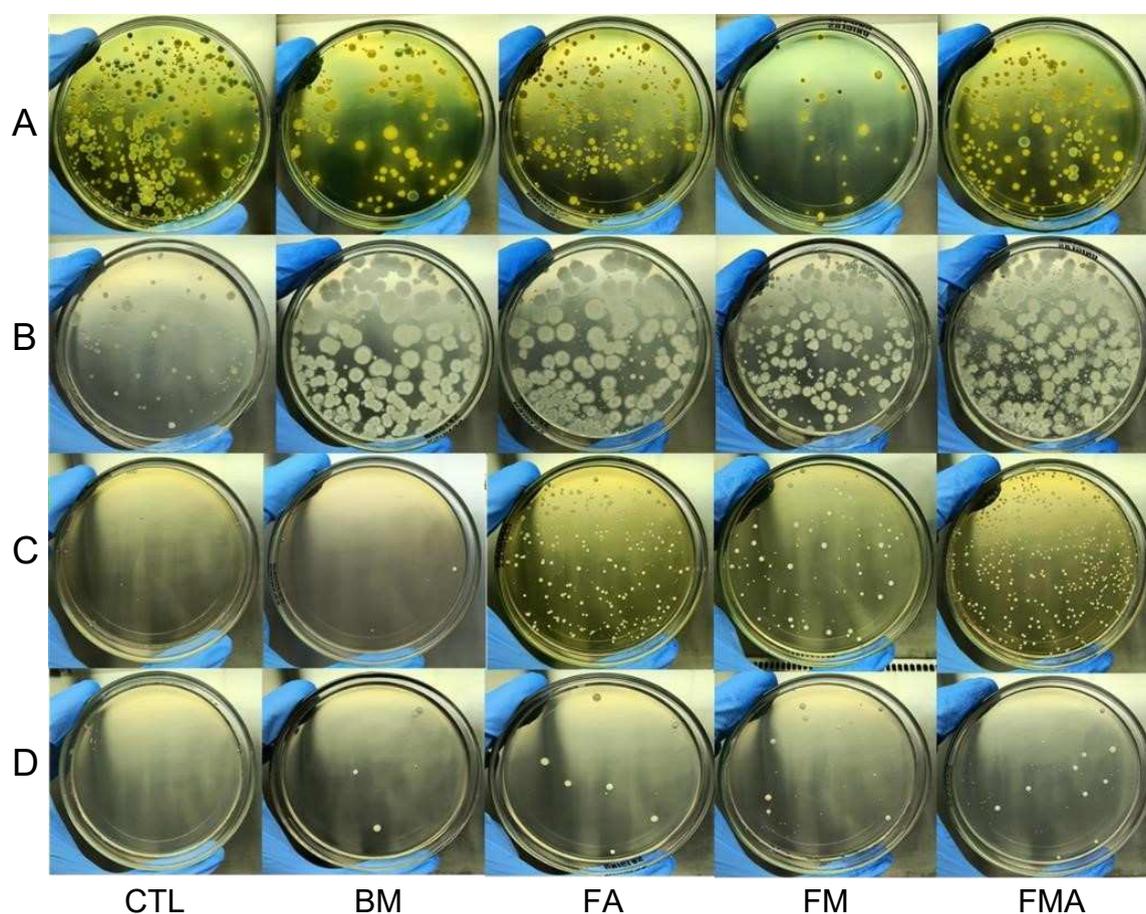
As análises microbiológicas revelaram que a carga de bactérias heterotróficas totais diminuiu com 60 dias quando comparadas as análises de 15 dias de cultivo. Os valores observados foram de $3,61 \times 10^2$, $2,63 \times 10^3$, $3,17 \times 10^3$, $2,93 \times 10^3$ e $2,61 \times 10^3$ UFC/mL nos tratamentos CTL, BM, FA, FM e FMA, respectivamente.

Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos BM, FA, FM e FMA. A condição CTL apresentou diferença significativa quando comparada aos demais tratamentos. Essa diferença pode ser justificada pelo uso de probióticos e/ou probióticos com fermentados que mantiveram a carga de bactérias heterotróficas totais no sistema devido as aplicações contínuas na água ao longo do cultivo.

Na avaliação das morfologias coloniais durante a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foi constatada diferença na diversidade morfológica entre as colônias na condição controle quando comparadas aos demais tratamentos. Na condição CTL, foi observada a predominância de colônias mucilaginosas e pequenas, enquanto que nos tratamentos com probiótico e/ou probiótico com fermentado foram verificadas a predominância de colônias secas, grandes e opacas,

características morfológicas típicas das cepas de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus pumilus* contidos no produto comercial BM-PRO® (Figura 06).

Figura 06 – Aspecto das morfologias coloniais em cada um dos tratamentos observadas nas placas de Petri contendo diferentes meios de cultura durante o monitoramento de 60 dias de cultivo para os grupos de microrganismos: A. *Vibrio* spp.; B. Bactérias heterotróficas totais; C. *Lactobacillus* spp. e D. Leveduras.



Fonte: BIOTRENDS – Soluções Biotecnológicas (2024).

As análises microbiológicas de *Lactobacillus* spp. e leveduras revelaram que mesmo após 60 dias de cultivo não foi detectada a presença desses grupos microbianos na condição controle. Nos tratamentos com probióticos e/ou probióticos com fermentado foi constatado um aumento de *Lactobacillus* spp. e de leveduras quando comparado com as cargas encontradas com 15 dias de cultivo. Os *Lactobacillus* spp. apresentaram valores de $2,00 \times 10^1$ UFC/mL, $3,82 \times 10^3$ UFC/mL, $6,30 \times 10^2$ UFC/mL e $3,48 \times 10^3$ UFC/mL para os tratamentos BM, FA, FM e FMA,

respectivamente. As leveduras apresentaram valores de $5,33 \times 10^1$ UFC/mL, $1,15 \times 10^2$ UFC/mL, $8,86 \times 10^1$ UFC/mL e $1,12 \times 10^2$ UFC/mL, respectivamente.

As análises estatísticas demonstraram que as condições onde foram inoculados probióticos com fermentados (FA, FM e FMA) na água de cultivo apresentaram resultados significativamente superiores de *Lactobacillus* spp. quando comparado ao tratamento com o probiótico apenas ativado (BM), demonstrando que as culturas fermentadas entregam uma maior quantidade de cepas probióticas do gênero *Lactobacillus* ao sistema de cultivo.

A elevada concentração de açúcares nas culturas fermentadas e a alta concentração do inóculo microbiano utilizando o probiótico BM-PRO® favorecem o processo fermentativo com produção de ácido láctico pelas cepas de *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus acidophilus* do probiótico comercial, promovendo o crescimento deste grupo de microrganismos. O bioaumento de *Lactobacillus* spp. nas águas de cultivo após sucessivas aplicações das culturas fermentadas promove uma melhora na sanidade do sistema, não só pelo aumento do número de células na água, mas também pela entrega de metabólitos microbianos com funções biológicas importantes para inibição de patógenos, como os ácidos orgânicos e as bacteriocinas, que são minipeptídeos que têm potente ação antimicrobiana (Popov et al., 2020).

No monitoramento de *Vibrio* spp., os resultados revelaram que em todos os tratamentos avaliados houve uma queda relevante na concentração de vibrios quando comparados aos resultados obtidos com 15 dias de cultivo, com exceção da condição controle. No monitoramento de *Vibrio* spp. com 60 dias de cultivo foram encontrados valores na condição CTL de $2,67 \times 10^3$ UFC/mL e nos tratamentos BM, FA, FM e FMA de $9,38 \times 10^2$ UFC/mL, $6,76 \times 10^2$ UFC/mL, $2,72 \times 10^2$ UFC/mL e $1,60 \times 10^3$ UFC/mL, respectivamente.

Esses dados revelaram que a condição CTL apresentou a maior carga de *Vibrio* spp. e que o tratamento FM apresentou a menor carga. Estatisticamente, o tratamento FM diferiu significativamente de todos os outros, os tratamentos BM e FA foram semelhantes entre si e tiveram os valores de *Vibrio* spp. maiores que o tratamento FM. Nos tratamentos CTL e FMA, as contagens não diferiram entre si e apresentaram os maiores valores de *Vibrio* do monitoramento.

É importante ressaltar que esses dados corroboram com os resultados de sobrevivência nos tanques. A carga de *Vibrio* spp. seguiu inversamente proporcional ao percentual de sobrevivência, sendo maior na condição CTL que teve menor

sobrevivência (46,1%), seguido pelos tratamentos FMA, BM e FA que apresentaram 49,8%, 62,8% e 65,7%, respectivamente, e, por último o tratamento FM que teve a maior sobrevivência (88,3%). Esses resultados indicam que a quantidade de *Vibrio* spp., pode ter interferido negativamente na sobrevivência dos animais conjuntamente com as cargas do vírus da IMN.

O tratamento FM apresentou a maior taxa sobrevivência e a menor carga de bactérias do gênero *Vibrio*. A estratégia do tratamento FM foi baseada na utilização de fermentado de probiótico com melaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono exclusiva. Essa peculiaridade pode ter gerado uma fermentação diferenciada em relação a bacteriocinas e ácidos lácticos, moléculas que são altamente eficientes no combate de *Vibrio* spp. (DEVI; REBECCA; SUMATHY, *et al.*, 2013; NAIEL *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2020), favorecendo a obtenção de um resultado otimizado na convivência com patógenos.

O melaço de cana-de-açúcar é composto por açúcares de fácil assimilação, principalmente sacarose, e sua adição no sistema produtivo promove o crescimento dos microrganismos presentes no ambiente, tanto benéficos, como probióticos, quanto maléficos, como víbrios. Em muitas situações, a aplicação de melaço de cana-de-açúcar diretamente na água do sistema produtivo, como realizado na condição CTL, pode gerar um aumento de patógenos e ativação de *quorum sensing* patogênico. Essa desregulação na microbiota promove o surgimento de um sistema de comunicação entre bactérias dependente da densidade populacional, onde as bactérias produzem, detectam e respondem a compostos sinalizadores regulando a ativação e a expressão de diferentes genes, dentre estes podem ser ativados fatores de virulência para surgimento de doenças.

No entanto, quando o melaço de cana-de-açúcar é utilizado associado a processos fermentativos, como realizado no tratamento FM, ele propicia um estímulo prioritário dos probióticos e pode promover benefícios de sanidade aos animais.

Na fermentação utilizando probiótico e melaço de cana-de-açúcar, os microrganismos estão adaptados e crescendo utilizando a fonte de carbono disponível, ou seja, as vias metabólicas de produção de enzimas que degradam a sacarose já estão ativadas. Quando essa cultura fermentada é adicionada a água de um sistema produtivo, as bactérias e leveduras probióticas entram no ambiente continuando a metabolização do carbono disponível, enquanto a microbiota ambiental irá identificar o açúcar e iniciar a ativação dos genes para começar a degradar a nova fonte de

carbono. Essa estratégia de aplicação de melaço de cana-de-açúcar fermentado com probiótico promove uma vantagem competitiva de metabolização prioritária do carbono pelos microrganismos probióticos em relação aos microrganismos ambientais, além de entregar probióticos aumentados e seus metabólitos no sistema.

Após 60 dias de cultivo, foi observado que a carga de bactérias heterotróficas totais foi maior quando comparada à de víbrios nos tratamentos BM, FA, FM e FMA, que utilizavam probiótico e/ou probiótico com fermentado. Por outro lado, na condição CTL, sem utilização de probiótico, a carga de víbrios foi superior à carga de bactérias heterotróficas totais. Outro ponto que merece destaque é a ausência de lactobacilos e leveduras na condição CTL. Esses resultados sugerem que a baixa sobrevivência na condição controle pode estar relacionada com a menor diversidade microbiana e a ausência de microrganismos probióticos, o que pode ter favorecido a ativação de *quorum sensing* patogênico de *Vibrio* spp. associada à infecção com o IMNV.

O tratamento FM, que utilizou fermentado de probiótico com melaço de cana-de-açúcar, apresentou a maior diferença entre a quantidade de bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp., indicando que, provavelmente, há um limite entre essas duas comunidades microbianas que favorece a inibição do *quorum sensing* patogênico nas bactérias do gênero *Vibrio*. Esse fato associado a influência positiva da presença de *Lactobacillus* e leveduras e seus metabólitos, como ácidos orgânicos e bacteriocinas, pode ter colaborado com os maiores resultados de sobrevivência.

A relação entre essas comunidades pode ter contribuído significativamente para o aumento da diversidade microbiana, melhora de imunidade, aumento da exclusão competitiva entre microrganismos, inibição da expressão de *quorum sensing* patogênico e, conseqüentemente, aumento da capacidade de convivência com patógenos bacterianos e virais, o que pode ser evidenciado nos resultados dos ensaios zootécnicos.

O desenvolvimento sustentável da carcinicultura depende de animais saudáveis que se desenvolvam em ambientes microbiologicamente equilibrados possuindo maior proporção de microrganismos benéficos quando comparado a patógenos. Essa microbiota ambiental equilibrada influencia diretamente a microbiota do sistema digestivo no animal, evitando a desregulação da microbiota intestinal, conhecida como disbiose, e, conseqüentemente a ativação de doenças por *quorum sensing*. Outro ponto importante, é a interação entre a microbiota equilibrada do

animal e seu sistema imune para promover a regulação das barreiras imunológicas, que é essencial para potencializar a proteção contra patógenos bacterianos e virais.

O entendimento das dinâmicas microbianas nos ambientes de cultivo é fundamental para se obter maior biossegurança e sustentabilidade, além de elevar o nível das tomadas de decisões no dia a dia, possibilitando o uso de ferramentas e estratégias mitigadoras mais efetivas e seguras para convivência com patógenos nos sistemas produtivos.

5 CONCLUSÃO

A aplicação da cultura fermentada com probiótico comercial e melaço de cana-de-açúcar na água de cultivo intensivo de camarão resultou em um efeito significativamente positivo na sobrevivência final e na produtividade de juvenis de *P. vannamei* infectados com o vírus da IMN. Esse efeito foi corroborado pelas análises das comunidades microbianas da água que demonstraram a colonização de grupos probióticos de *Bacillus*, *Lactobacillus* e leveduras associado à inibição de comunidades de *Vibrio*. Adicionalmente, as análises de RT-PCR nos camarões despescados demonstraram uma menor carga do IMNV quando comparado aos demais tratamentos experimentais. Esses fatores favoreceram os resultados diferenciados na convivência com os patógenos bacterianos e virais durante os estudos zootécnicos.

A utilização dos probióticos na água de cultivo também demonstrou eficácia em controlar e diminuir os níveis de nitrito e nitrato na água.

Estudos futuros devem considerar avaliações dos fermentados em condições de ausência do IMNV para compreender seus mecanismos de ação e como também a presença de compostos bioativos.

REFERÊNCIAS

ABREU, Mônica Cavalcanti Sá de; MATTOS, Paloma de; LIMA, Pedro Elder Silva; PADULA, Antonio Domingos. Shrimp farming in coastal Brazil: reasons for market failure and sustainability challenges. **Ocean & Coastal Management**, v. 54, n. 9, p. 658-667, set. 2011.

ALVES NETO, Inácio; BRANDÃO, Hellyjúnyor; FURTADO, Plínio Schmidt; WASIELESKY JUNIOR, Wilson. Acute toxicity of nitrate in *Litopenaeus vannamei* juveniles at low salinity levels. **Ciência Rural**, v. 49, n. 1, 2019.

AMOS, Kevin H. **Procedures for the detection and identification of certain fish pathogens**. 3. ed. Oregon: Fish Health Section, 1985. 114 p.

ANDERSON, James L.; VALDERRAMA, D.; JORY, D. E. GOAL 2019: Global shrimp production review. **Global Aquaculture Advocate**. p. 1-5. nov. 2019.

ANDRADE, Thales P.D.; CRUZ-FLORES, Roberto; MAI, Hung N.; DHAR, Arun K.. Novel infectious myonecrosis virus (IMNV) variant is associated with recent disease outbreaks in *Penaeus vannamei* shrimp in Brazil. **Aquaculture**, v. 554, p. 738159, maio 2022.

ANGELIM, Alysson Lira; COSTA, Samantha Pinheiro da. OS BENEFÍCIOS DO USO DE PROBIÓTICOS NAAQUICULTURA. **Revista ABCC**, Natal, v. 1, p. 36-39, jun. 2017.

ASCHE, Frank; ANDERSON, James L.; BOTTA, Robert; KUMAR, Ganesh; ABRAHAMSEN, Eirik B.; NGUYEN, Ly T.; VALDERRAMA, Diego. The economics of shrimp disease. **Journal Of Invertebrate Pathology**, [S.L.], v. 186, p. 107397, nov. 2021.

AVNIMELECH, Yoram. **Biofloc technology: a practical guide book**. Baton Rouge: World Aquaculture Society, 2009.

BALCAZAR, J; BLAS, I; RUIZZARZUELA, I; CUNNINGHAM, D; VENDRELL, D; MUZQUIZ, J. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary Microbiology**, v. 114, n. 3-4, p. 173-186, 31 maio 2006.

BINDELS, Laure B.; DELZENNE, Nathalie M.; CANI, Patrice D.; WALTER, Jens. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 12, p. 303-310, 2015.

BOYD, C.E. Water quality in warm water fish ponds. **Craftmaster Auburn**, Alabama, USA, Printers Inc. 1979.

BOYD, C.E; Tucker, C.S. Pond aquaculture water quality management. **Kluwer Academic Publishers**, Boston. 1998.

BOYD, Claude E.. Chemical Budgets for Channel Catfish Ponds. **Transactions Of The American Fisheries Society**, v. 114, n. 2, p. 291-298, mar. 1985.

BOYD, Claude E.. Management of Bottom Soil Condition and Pond Water and Effluent Quality. In: BOYD, Claude E.. **Tilapia: Biology, Culture, and Nutrition**. New York: Lim, C, Webster, Cd, 2002. p. 449-467.

BRASIL. Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Instrução Normativa nº 44, de 15 de dezembro de 2015**. Disponível em:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/instrucoes-normativas/instrucao-normativa-sda-mapa-ndeg-44-de-15-12-2015.pdf>. Acesso em: 10 maio 2024.

BROCK, James A.; BULLIS, Robert. Disease prevention and control for gametes and embryos of fish and marine shrimp. **Reproductive Biotechnology In Finfish Aquaculture**, p. 137-159, 2001.

BURR, Gary; GATLIN, Delbert; RICKE, Steven. Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract of Fish and the Potential Application of Prebiotics and Probiotics in Finfish Aquaculture. **Journal Of The World Aquaculture Society**, v. 36, n. 4, p. 425-436, dez. 2005.

BUTT, Usman Dawood; LIN, Na; AKHTER, Najeeb; SIDDIQUI, Tooba; LI, Sihui; WU, Bin. Overview of the latest developments in the role of probiotics, prebiotics and synbiotics in shrimp aquaculture. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 114, p. 263-281, jul. 2021.

CARBAJAL-HERNÁNDEZ, José Juan; SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ, Luis P.; VILLA-VARGAS, Luis A.; CARRASCO-OCHOA, Jesús A.; MARTÍNEZ-TRINIDAD, José Fco.. Water quality assessment in shrimp culture using an analytical hierarchical process. **Ecological Indicators**, v. 29, p. 148-158, jun. 2013.

CASTRO, Leandro Fonseca. **Desempenho do camarão branco do pacífico, *Litopenaeus vannamei*, infectado com o vírus da mionecrose infecciosa (imnv) e alimentado com rações contendo uma combinação de f3-1,3/1,6-glucano e ácido l-ascórbico monofosfatado**. 2007. 33 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

CHAMBERLAIN, George W.. HISTORY OF SHRIMP FARMING. In: ALDAY-SANZ, Victoria. **THE SHRIMP BOOK**. Nottingham: Nottingham University Press, 2010. p. 1-34.

CHAUHAN, Sweta V.; CHORAWALA, Mehul R.. Probiotics, prebiotics and synbiotics. **International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research**, v. 3, n. 3, p. 711-726, 1 mar. 2012.

COSTA, Felipe Pernambuco da. **Influência da densidade de estocagem sobre o crescimento, ciclo de muda e o comportamento em juvenis do camarão marinho *Litopenaeus vannamei***. 2012. 100 f. Dissertação (Mestrado em Psicobiologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

CRIDER, Mary C. **THE SOCIAL AND ENVIRONMENTAL EFFECTS OF SHRIMP MARICULTURE: CASE STUDIES OF TWO COASTAL VILLAGES IN ECUADOR**. 2012. 126 f. Dissertação (Mestrado) - Geosciences, Florida Atlantic University, Boca Raton, 2012.

CRUZ, Patricia Martínez; IBÁÑEZ, Ana L.; HERMOSILLO, Oscar A. Monroy; SAAD, Hugo C. Ramírez. Use of Probiotics in Aquaculture. **Isrn Microbiology**, v. 2012, p. 1-13, 16 out. 2012.

DAWOOD, Mahmoud A.O.; KOSHIO, Shunsuke; ABDEL-DAIM, Mohamed M.; VAN DOAN, Hien. Probiotic application for sustainable aquaculture. **Reviews In Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 907-924, 9 jul. 2018.

DEVI, M.; REBECCA, L. J.; SUMATHY, S. Bactericidal activity of the lactic acid bacteria *Lactobacillus delbreukii*. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, 5(2), 176-180, 2013.

FAO, 2014. **Surveillance and zoning for aquatic animal diseases**: overview of surveillance and zoning. Disponível em: <https://www.fao.org/4/y5325e/y5325e0b.htm#TopOfPage> acesso em: 10/09/2024.

FAO. **FishStatJ - Software for Fishery Statistical Time Series**. Version 4.03.05, 2024a. Disponível em: <https://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en>. Acesso em: 24 ago. 2024.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Towards Blue Transformation**. Rome: FAO, 2024b.

FEIJÓ, Rubens G.; KAMIMURA, Michel T.; OLIVEIRA-NETO, João M.; VILA-NOVA, Cândida M.V.M.; GOMES, Ana C.s.; COELHO, Maria das Graças L.; VASCONCELOS, Régis F.; GESTEIRA, Tereza Cristina V.; MARINS, Luis F.; MAGGIONI, Rodrigo. Infectious myonecrosis virus and white spot syndrome virus co-infection in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farmed in Brazil. **Aquaculture**, v. 380-383, p. 1-5, mar. 2013.

FEBRIANTI, Dwi; YUHANA, Munti; ., Widanarni. Dietary Synbiotic Microcapsule Influence the Immune Responses, Growth Performance and Microbial Populations to White Spot Syndrome Virus in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Journal Of Fisheries And Aquatic Science**, v. 11, n. 1, p. 28-42, 15 dez. 2015.

FERREIRA, Dijaci Araújo. **Produção de juvenis do camarão *Litopenaeus vannamei* com diferentes densidades de estocagem em baixa salinidade e meio heterotrófico**. 2009. 65 f. Dissertação (Mestrado Recursos Pesqueiros e Aquicultura) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

FERREIRA, N.C.; BONETTI, C.; SEIFFERT, W.Q.. Hydrological and Water Quality Indices as management tools in marine shrimp culture. **Aquaculture**, v. 318, n. 3-4, p. 425-433, ago. 2011.

FLEGEL, Timothy W.. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. **Journal Of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 166-173, jun. 2012.

GRAF, C.; GERVAIS, N.; FERNANDES, M.P.C.; AYALA, J.C. Transmissão da síndrome da necrose idiopática muscular (NIM) em *Litopenaeus vannamei*. **Revista da ABCC**, v.4, n.5, p.45-47, 2006.

GOOGLE. Google Earth 2024.

GUTIERREZ RAMIREZ, Luz Adriana; MONTROYA, Olga Inés; VELEZ ZEA, Juliana Marfa. Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal. **Rev. P+L**, Caldas, v. 8, n. 1, p. 135-146, jan. 2013.

HAMEED, A s Sahul; MAJEED, S Abdul; VIMAL, S; MADAN, N; RAJKUMAR, T; SANTHOSHKUMAR, S; SIVAKUMAR, S. Studies on the occurrence of infectious myonecrosis virus in pond-reared *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in India. **Journal Of Fish Diseases**, v. 40, n. 12, p. 1823-1830, 20 jun. 2017.

HASAN, Kazi Nurul; BANERJEE, Goutam. Recent studies on probiotics as beneficial mediator in aquaculture: a review. **The Journal Of Basic And Applied Zoology**, v. 81, n. 1, p. 53-81, 27 ago. 2020.

KOLIDA, Sofia; GIBSON, Glenn R.. Synbiotics in Health and Disease. **Annual Review Of Food Science And Technology**, v. 2, n. 1, p. 373-393, 10 abr. 2011.

LIGHTNER, D. V.; PANTOJA, C. R.; POULOS, B. T.; TANG, K. F. J.; REDMAN, R. M.; ANDRADE, T. P. & BONAMI, J. R. Infectious Myonecrosis (IMN): a new virus disease of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture 2004 Book of Abstracts of Aquaculture**. p.353. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, 2004.

LIGHTNER, D.V. Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the Americas): a review. **Journal Of Invertebrate Pathology**, v. 106, n. 1, p. 110-130, jan. 2011.

LIMA, João Paulo Viana de. **utilização de melão como fonte de carbono em cultivo do camarão branco do pacífico *Litopenaeus vannamei* (boone, 1931) sem renovação de água e sob diferentes relações carbono/nitrogênio**. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

LIMA, Patrícia Pereira de. **Influência da salinidade e temperatura da água nas respostas comportamental e fisiológica de camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* (BOONE 1931)**. 2011. 98 f. Tese (Doutorado em Psicobiologia) - Universidade Federal do Rio Grande, Natal, 2011.

LIZ, Diego Melo de. **Fontes de carbono e estratégias para controle de sólidos no sistema de bioflocos**. 2022. 82 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2022.

LLEWELLYN, Martin S.; BOUTIN, Sã©Bastien; HOSEINIFAR, Seyed Hossein; DEROME, Nicolas. Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries. **Frontiers In Microbiology**, v. 5, n. 207, p. 1-17, 2 jun. 2014.

LOEBMANN, Daniel; MAI, Ana Cecília G.; LEE, James T.. The invasion of five alien species in the Delta do Parnaíba Environmental Protection Area, Northeastern Brazil. **Revista de Biología Tropical**, v. 58, n. 2, p. 909-923, 20 set. 2009.

MA, Zhen; SONG, Xiefa; WAN, Rong; GAO, Lei. A modified water quality index for intensive shrimp ponds of *Litopenaeus vannamei*. **Ecological Indicators**, v. 24, p. 287-293, jan. 2013.

MAIA, Enox de Paiva; MODESTO, George Alves; BRITO, Luis Otavio; GÁLVEZ, Alfredo Olivera. Crescimento, sobrevivência e produção de *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema intensivo. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 17, n. 1, p. 15-19, 2012.

MAPA. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 44, DE 15 DE DEZEMBRO DE 2015**.

Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/instrucoes-normativas/instrucao-normativa-sda-mapa-ndeg-44-de-15-12-2015.pdf>. Acesso em: 10 maio 2024.

MARQUES, Ana Rita; PEREIRA, Marcelo; FERREIRA NETO, Jose Soares; FERREIRA, Fernando. Design and prospective evaluation of a risk-based surveillance system for shrimp grow-out farms in northeast Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 122, n. 3, p. 355-362, dez. 2015.

MEJIA, Edras Rodimiro Rodriguez. **Efeito dos níveis dietéticos de metionina e lipídios no desempenho zootécnico de juvenis do *Litopenaeus vannamei* cultivados em salinidade isosmótica e hiperosmótica**. 2022. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

MUSSATTO, Solange I.; MANCILHA, Ismael M.. Non-digestible oligosaccharides: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 3, p. 587-597, abr. 2007.

NADARAJAH, Suthamathy; FLAATEN, Ola. Global aquaculture growth and institutional quality. **Marine Policy**, v. 84, p. 142-151, out. 2017.

NAIEL, M. A.; FARAG, M. R.; GEWIDA, A. G.; ELNAKEEB, M. A.; AMER, M. S.; ALAGAWANY, M. Using lactic acid bacteria as an immunostimulants in cultured shrimp with special reference to *Lactobacillus* spp. **Aquaculture International**, v.29, p.219-231, 2021.

NAYLOR, Rosamond L.; HARDY, Ronald W.; BUSCHMANN, Alejandro H.; BUSH, Simon R.; CAO, Ling; KLINGER, Dane H.; LITTLE, David C.; LUBCHENCO, Jane; SHUMWAY, Sandra E.; TROELL, Max. A 20-year retrospective review of global aquaculture. **Nature**, v. 591, n. 7851, p. 551-563, 24 mar. 2021.

NG, Law Yong; NG, Ching Yin; MAHMOUDI, Ebrahim; ONG, Chin Boon; MOHAMMAD, Abdul Wahab. A review of the management of inflow water, wastewater and water reuse by membrane technology for a sustainable production in shrimp farming. **Journal Of Water Process Engineering**, v. 23, p. 27-44, jun. 2018.

NUNES, A. J. P. O impacto da temperatura no cultivo de camarões marinhos. **Revista da ABCC**, v. 4, n. 1, p. 43-51, 2002.

NUNES, Alberto Jorge Pinto; MARTINS, Pedro Carlos Cunha; GESTEIRA, Tereza Cristina Vasconcelos. Carcinicultura Ameaçada. **Panorama da Aquicultura**, v. 83, p. 37-51, jun. 2004.

OIE. Infectious myonecrosis. **Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals**, France, Paris (2019), pp. 138-147.

OKTAVIANA, Adni; WIDANARNI; YUHANA, Munti. The Use of Synbiotics to Prevent IMNV and *Vibrio harveyi* Co-Infection in *Litopenaeus vannamei*. **Hayati Journal Of Biosciences**, v. 21, n. 3, p. 127-134, set. 2014.

OSTRENSKY, Antônio, BORGHETTI, José Roberto, SOTO, Doris. **Aquicultura no Brasil: O desafio é crescer**. Brasília: Gia, 2008. 276 p.

PANDIYAN, Priyadarshini; BALARAMAN, Deivasigamani; THIRUNAVUKKARASU, Rajasekar; GEORGE, Edward Gnana Jothi; SUBARAMANIYAN, Kumaran; MANIKKAM, Sakthivel; SADAYAPPAN, Balamurugan. Probiotics in aquaculture. **Drug Invention Today**, v. 5, n. 1, p. 55-59, mar. 2013.

PASCOAL, Ananías; BARROS-VELÁZQUEZ, Jorge; ORTEA, Ignacio; CEPEDA, Alberto; GALLARDO, José M.; CALO-MATA, Pilar. Molecular identification of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), the white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and the Indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) by PCR targeted to the 16S rRNA mtDNA. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1457-1461, abr. 2011.

PASHARAWIPAS, Tirasak; THAIKUA, Surasak; SRIURAIRATANA, Siriporn; RUANGPAN, Lila; DIREKBUSARAKUM, Sataporn; MANOPVISETCHAREAN, Jaroon; FLEGEL, Timothy W. Partial characterization of a novel bacteriophage of *Vibrio harveyi* isolated from shrimp culture ponds in Thailand. **Virus Research**, v. 114, n. 1-2, p. 63-69, dez. 2005.

PATIL, Prasanna Kumar; GEETHA, Rajamanickam; RAVISANKAR, Thiagarajan; AVUNJE, Satheesha; SOLANKI, Hareshkumar Gokal; ABRAHAM, Thangapalam Jawahar; VINOTH, Sakkarai Pandiyan; JITHENDRAN, Karingalakkandy Poochirian; ALAVANDI, Shankar Vinayakarao; VIJAYAN, Koyadan Kizhakedath. Economic loss due to diseases in Indian shrimp farming with special reference to Enterocytozoon

hepatopenaei (EHP) and white spot syndrome virus (WSSV). **Aquaculture**, v. 533, p. 736231, fev. 2021.

PAUL, Brojo Gopal; VOGL, Christian Reinhard. Impacts of shrimp farming in Bangladesh: challenges and alternatives. **Ocean & Coastal Management**, v. 54, n. 3, p. 201-211, mar. 2011.

PEREIRA, Alitiene Moura Lemos. **Manejo de compostos nitrogenados na carcinicultura**. Brasília: Embrapa, 2022.

PINHEIRO, Ana C.A.S.; LIMA, Ana P.S.; SOUZA, Marília E. de; C.L. NETO, Edvaldo; ADRIÃO, Manoel; GONÇALVES, Vítor S.P.; COIMBRA, Maria R.M.. Epidemiological status of Taura syndrome and Infectious myonecrosis viruses in *Penaeus vannamei* reared in Pernambuco (Brazil). **Aquaculture**, v. 262, n. 1, p. 17-22, fev. 2007.

POPOV, V. S.; VOROBYEVA, N. V.; SVAZLYAN, G. A.; NAUMOV, N. M.; GRYAZNOVA, O. A. Overview of metabiotics and probiotic cultures during fermentation of molasses. **Systematic Reviews in Pharmacy**, 11(9), 813-817, 2020.

POULOS, Bonnie T.; TANG, Kathy F. J.; PANTOJA, Carlos R.; BONAMI, Jean Robert; LIGHTNER, Donald V.. Purification and characterization of infectious myonecrosis virus of penaeid shrimp. **Journal Of General Virology**, v. 87, n. 4, p. 987-996, 1 abr. 2006.

PRASAD, Kurcheti Pani; SHYAM, Ku; BANU, Husne; JEENA, K; KRISHNAN, Rahul. Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) – An alarming viral pathogen to Penaeid shrimps. **Aquaculture**, v. 477, p. 99-105, ago. 2017.

PRETO, Artur de Lima; CAVALLI, Ronaldo; PISSETTI, Tito; ABREU, Paulo César; WASIELESKY JÚNIOR, Wilson. Efeito da densidade de estocagem sobre o biofilme e o desempenho de pós-larvas do camarão-rosa Farfante *Penaeus paulensis* cultivadas em gaiolas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1417-1423, dez. 2005.

RAMÍREZ, Norha Bolívar; SEIFFERT, Walter Quadros; VIEIRA, Felipe do Nascimento; MOURIÑO, José Luiz Pedreira; JESUS, Gabriel Fernandes Alves; FERREIRA, Gabriela Soltes; ANDREATTA, Edemar Roberto. Dieta suplementada com prebiótico, probiótico e simbiótico no cultivo de camarões marinhos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 913-919, ago. 2013.

RICE, E. W.; BAIRD, R. B.; EATON, A. D.; CLESCERI, L. S. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22 ed. Washington: American Public Health Association, 2012.

RINGØ, E.; OLSEN, R.e.; GIFSTAD, T.ø.; DALMO, R.A.; AMLUND, H.; HEMRE, G.-I.; BAKKE, A.M.. Prebiotics in aquaculture: a review. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 117-136, abr. 2010.

ROCHA, Itamar de Paiva. **Carcinicultura Brasileira: Processos Tecnológicos, Impactos Sócio-Econômicos, Sustentabilidade Ambiental, Entraves e Oportunidades**. 2011. Disponível em: <https://abccam.com.br/wp-content/uploads/2011/03/carcinicultura%20brasileira%20-%20revista%20abcc%20-%20janeiro%202011.pdf>. Acesso em: 05 maio 2024.

SÁ, Marcelo Vinicius Carmo e. **Limnocultura - Limnologia para Aquicultura**. São Paulo: Blucher, 2023. 346 p.

SABRY NETO, Hassan; NUNES, Alberto Jorge Pinto. Performance and immunological resistance of *Litopenaeus vannamei* fed a β -1,3/1,6-glucan-supplemented diet after per os challenge with the Infectious myonecrosis virus (IMNV). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 5, p. 165-173, maio 2015.

SANTOS JÚNIOR, M. M. dos; ALVES DE JESUS, G. F.; LEGARDA, E. C.; MOURIÑO, J. L. P.; SEIFFERT, W. Q.; VIEI-RA, F. do N. Utilização comparativa de enrofloxacino, probiótico (*Lactobacillus plantarum*) e propionato de sódio na larvicultura de Camarão Branco do Pacífico. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 19, n. 3, p. 131-135, jul./set. 2016.

SANTOS, Isaac Basílio dos. **Cultivo do camarão *litopenaeus vannamei* em sistema híbrido superintensivo, com zero descarga e reúso de água**. 2019. 36 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

SANTOS, Pedro Anderson de Paiva dos. **Caracterização de possíveis sítios polimórficos no vírus da mionecrose infecciosa (imnv), patógeno do camarão *Litopenaeus vannamei***. 2022. 50 f. TCC (Graduação em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

SENAPIN, Saengchan; PHEWSAIYA, Kornsunee; BRIGGS, Matthew; FLEGEL, Timothy W.. Outbreaks of infectious myonecrosis virus (IMNV) in Indonesia confirmed by genome sequencing and use of an alternative RT-PCR detection method. **Aquaculture**, v. 266, n. 1-4, p. 32-38, jun. 2007.

SILVA, Suzianny Maria Bezerra Cabral da; SILVA, Alexandre Duarte Rodrigues da; LAVANDER, Henrique David; CHAVES, Thaís Castelo-Branco; PEIXOTO, Silvio; GÁLVEZ, Alfredo Olivera; COIMBRA, Maria Raquel Moura. Vertical transmission of Infectious myonecrosis virus in *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 459, p. 216-222, jun. 2016.

SILVA, Verônica Arns da; SANTOS, Fernando L. dos; BEZERRA, Suely S.; PEDROSA, Virginia F.; MENDES, Paulo de P.; MENDES, Emiko S.. A multi-season survey for infectious myonecrosis in farmed shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Pernambuco, Brazil. **Journal Of Invertebrate Pathology**, v. 104, n. 3, p. 161-165, jul. 2010.

SOARES, Roberta; PEIXOTO, Sílvio; WASIELESKY, Wilson; BIANCHINI, Adalto; CAVALLI, Ronaldo; WASIELESKY, Wilson. Efeito da temperatura na sobrevivência, consumo alimentar e crescimento de pós-larvas do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis*. **Atlântica**, v. 34, n. 1, p. 23-30, 1 abr. 2012.

SOUZA, Diego Moreira de. **Efeito da temperatura e suas implicações no sistema antioxidante e parâmetros imunológicos de camarões peneídeos**. 2014. 141 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande, 2014.

SOUZA, Diego Moreira de. **Utilização de probióticos e fertilização orgânica com melaço durante a fase de berçário do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* em sistema super intensivo sem renovação de água**. 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011.

SUMON, Tofael Ahmed; HUSSAIN, Md. Ashraf; SUMON, Md. Afsar Ahmed; JANG, Won Je; ABELLAN, Francisco Guardiola; SHARIFUZZAMAN, S.M.; BROWN, Christopher L.; LEE, Eun-Woo; KIM, Chan-Hee; HASAN, Md. Tawheed. Functionality and prophylactic role of probiotics in shellfish aquaculture. **Aquaculture Reports**, v. 25, p. 101220, ago. 2022.

TANG, Jinghua; OCHOA, Wendy F.; SINKOVITS, Robert S.; POULOS, Bonnie T.; GHABRIAL, Said A.; LIGHTNER, Donald V.; BAKER, Timothy S.; NIBERT, Max L.. Infectious myonecrosis virus has a totivirus-like, 120-subunit capsid, but with fiber complexes at the fivefold axes. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, v. 105, n. 45, p. 17526-17531, 11 nov. 2008.

TANG, Kfj; PANTOJA, Cr; POULOS, Bt; REDMAN, Rm; LIGHTNER, Dv. In situ hybridization demonstrates that *Litopenaeus vannamei*, *L. stylirostris* and *Penaeus monodon* are susceptible to experimental infection with infectious myonecrosis virus (IMNV). **Diseases Of Aquatic Organisms**, v. 63, p. 261-265, 2005.

TAW, N. Recent developments in biofloc technology. Biosecure systems improve economics, sustainability. **Global Aquaculture Advocate**, setembro/outubro, p. 28–29. 2012.

VALENTI, Wagner C.; BARROS, Helenice P.; MORAES-VALENTI, Patricia; BUENO, Guilherme W.; CAVALLI, Ronaldo O. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, p. 100611, mar. 2021.

VALENTE, Cecília de Souza; WAN, Alex H.L.. *Vibrio* and major commercially important vibriosis diseases in decapod crustaceans. **Journal Of Invertebrate Pathology**, v. 181, p. 107527, maio 2021.

VERSCHUERE, Laurent; ROMBAUT, Geert; SORGELOOS, Patrick; VERSTRAETE, Willy. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 4, p. 655-671, dez. 2000.

WANG, X.; WANG, W.; LV, H.; ZHANG, H.; LIU, Y.; ZHANG, M.; WANG, Y.; TAN, Z. Probiotic potential and wide-spectrum antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from infant feces. **Probiotics and antimicrobial proteins**, 13, 90-101, 2020.

WATERS, C. M.; BASSLER, B. L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, 21(1), 319-346, 2005.

WTO, 2014. Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures. Disponível em: https://www.wto.org/english/docs_e/legal_e/15sps_01_e.htm#preamble_6. Acesso em: 10/09/2024.

APÊNDICE A – DIAGNÓSTICO VIRAL NO INÍCIO DO EXPERIMENTO



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



RESUMO DO DIAGNÓSTICO VIRAL

DADOS GERAIS	
Fazenda/Origem	CEAC – Alberto Jorge Pinto Nunes
Localidade	Eusebio-CE
Número de Amostras	1
Dia de recebimento	03 de Julho de 2023
Vírus Analisados	Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV) e Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV)
Método	Quantitativo qPCR / TaqMan Reagentes
Material analisado	Pós-larva de camarão <i>Penaeus vannamei</i>

RESULTADOS		
Amostra Única – Pós-larva		
Vírus	Conclusão Diagnóstica	Carga Viral Média (cópias/µg de DNA ou RNA)
WSSV	NÃO DETECTADO	-
IMNV	NÃO DETECTADO	-

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



RELATÓRIO DESCRITIVO DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Ao Sr. Alberto Jorge Pinto Nunes

Fortaleza, 07 de Julho de 2023

A presente análise molecular foi realizada a partir de UMA amostra denominada “Única-Pós-larva”. Após análise qualitativa por qPCR em tempo real, utilizando os sistemas de detecção TaqMan Reagents® e a plataforma ABI 7500 (Applied Biosystems®) para a detecção dos vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) e vírus da mionecrose infecciosa (IMNV), tem-se os resultados a seguir especificados:

Amostra Única – Pós-larva

Material Analisado: Pós-larva de camarão *Penaeus vannamei*

Qualidade da Amostra no recebimento: **Satisfatória**

Quantidade de DNA e RNA extraído: **Satisfatórios**

Repetições	Carga Viral (cópias de WSSV/µg de DNA)	Carga Viral (cópias de IMNV/µg de RNA)
Unica-A	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
Unica-B	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
Carga Viral média	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
Percentual de Detecção	0%(0/2)	0%(0/2)

Conclusão diagnóstica:

- WSSV não foi detectado na amostra Única.
- IMNV não foi detectado na amostra Única.

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Primers utilizados para Detecção de WSSV e IMNV

ID Primer	Sequência 5'-3'	Amplicon	Acesso GenBank
WSS1011F	TGGTCCCGTCCTCATCTCAG		
WSS1079R	GCTGCCTTGCCGGAATTA	69 pb	AF332103
Fonte: OIE(2009)			
ID Primer	Sequência 5'-3'	Amplicon	Acesso GenBank
IMNV412F	GGACCTATCATACATAGCGTTTGCA		
IMNV545R	AACCCATATCTATTGTCGCTGGAT	134 pb	AY570982

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Gráfico de Amplificação para a detecção de WSSV

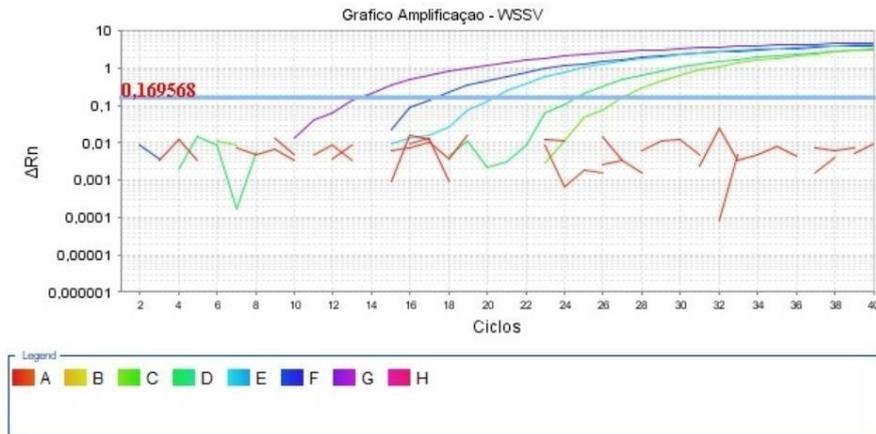


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Curva Padrão para WSSV

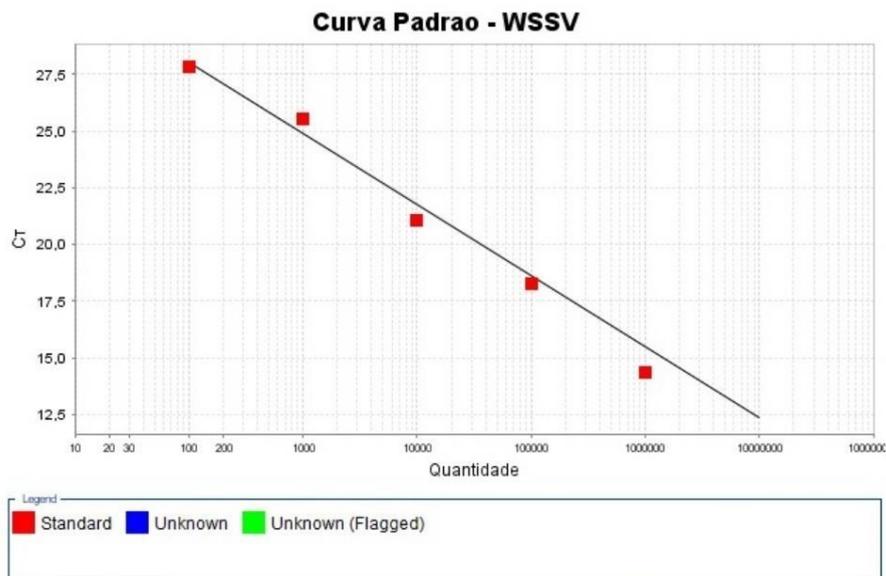


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Gráfico de Amplificação para a detecção de IMNV

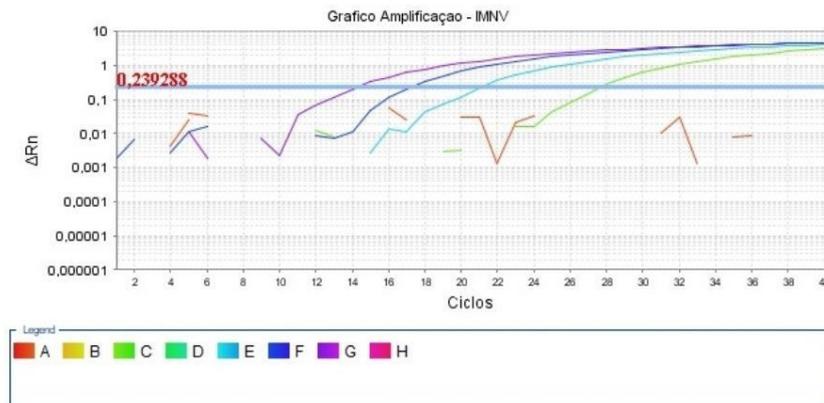


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Curva Padrão para IMNV

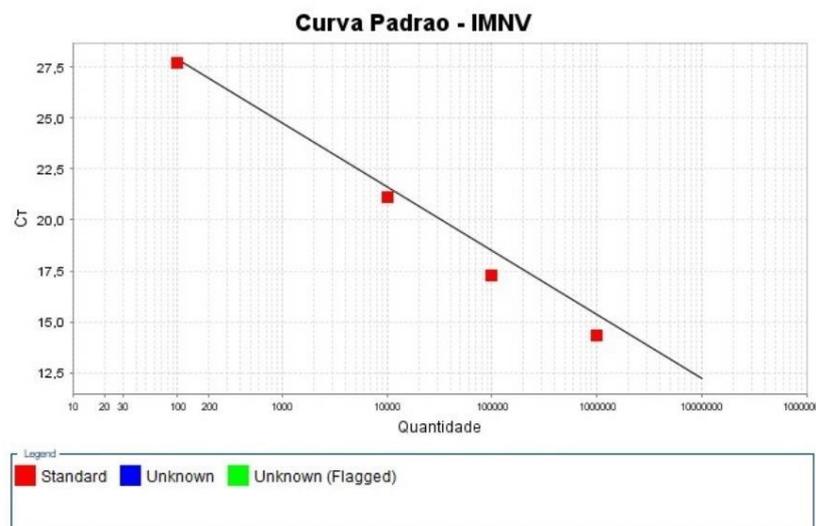


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081
 Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028

APÊNDICE B – DIAGNÓSTICO VIRAL APÓS O EXPERIMENTO



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
Universidade Federal do Ceará



RESUMO DO DIAGNÓSTICO VIRAL

DADOS GERAIS	
Fazenda/Origem	Biotrends -Soluções Biotecnológicas
Localidade	Eusébio-CE
Número de Amostras	5
Dia de recebimento	11 de Outubro de 2023
Vírus Analisados	Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV)
Método	Quantitativo qPCR / TaqMan Reagentes e Qualitativo SYBR Green Reagentes
Material analisado	Camarão <i>Penaeus vannamei</i>

RESULTADOS

Amostra	IMNV		
	Protocolo 1 (WOAH*)	Protocolo 2 (Adaptado WOAH)	Protocolo 3 (Cedecam)
T1	NÃO DETECTADO	DETECTADO	NÃO DETECTADO
T2	NÃO DETECTADO	DETECTADO	NÃO DETECTADO
T3	NÃO DETECTADO	DETECTADO	NÃO DETECTADO
T4	NÃO DETECTADO	DETECTADO	NÃO DETECTADO
T5	NÃO DETECTADO	DETECTADO	NÃO DETECTADO

WOAH: Organização Mundial para Saúde Animal



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



RELATÓRIO DESCRITIVO DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR

A BIOTRENDS SOLUÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

Fortaleza, 19 de Outubro de 2023

A presente análise molecular foi realizada a partir de CINCO amostras denominadas “T1”, “T2”, “T3”, “T4” e “T5”. Após análise qualitativa por qPCR em tempo real, utilizando os sistemas de detecção SYBR Green/TaqMan Reagents® e a plataforma ABI 7500 (Applied Biosystems®) para a detecção do vírus da mionecrose infecciosa (IMNV), tem-se os resultados a seguir especificados:

Protocolo 1 – *Primers* WOA (qPCR - TaqMan)

Material Analisado: Camarão *Penaeus vannamei*

Qualidade da Amostra no recebimento: **Satisfatória**

Quantidade de RNA extraído: **Satisfatória**

Amostra Repetições	IMNV		Carga Viral (cópias de IMNV/ μ g de RNA)
	Repetição 1	Repetição 2	
T1	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T2	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T3	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T4	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T5	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO

Conclusão diagnóstica:

- IMNV não foi detectado nas amostras “T1”, “T2”, “T3”, “T4” e “T5”.

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Protocolo 2 – *Primers* adaptado de WOAH (2º Passo – *nested*-PCR)

Material Analisado: Camarão *Penaeus vannamei*

Qualidade da Amostra no recebimento: **Satisfatória**

Quantidade de RNA extraído: **Satisfatória**

Amostra Repetições	Ct médio (amostra)	Ct médio (controle positivo IMNV)	Carga Viral estimada (cópias de IMNV/μg de RNA)
T1	13,96	10,91	< 2,01 × 10 ⁴
T2	11,06	10,91	< 2,01 × 10 ⁴
T3	13,88	10,91	< 2,01 × 10 ⁴
T4	16,23	10,91	< 2,01 × 10 ⁴
T5	15,12	10,91	< 2,01 × 10 ⁴

Conclusão diagnóstica:

- IMNV **foi detectado** nas amostras “T1”, “T2”, “T3”, “T4” e “T5”.

Protocolo 3 – *Primer* interno - desenho CEDECAM (qPCR - SYBR)

Material Analisado: Camarão *Penaeus vannamei*

Qualidade da Amostra no recebimento: **Satisfatória**

Quantidade de RNA extraído: **Satisfatória**

Amostra Repetições	IMNV		Carga Viral (cópias de IMNV/μg de RNA)
	Repetição 1	Repetição 2	
T1	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T2	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T3	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T4	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T5	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO

Conclusão diagnóstica:

- IMNV **não foi detectado** nas amostras “T1”, “T2”, “T3”, “T4” e “T5”.



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Primers utilizados para Detecção de IMNV

Protocolo 1 – Primers WOH specific for qPCR, together with hydrolysis probe

ID Primer	Sequência 5'-3'	Amplicon	Acesso GenBank
IMNV 412 F	GGACCTATCATACATAGCGTTTGCA		
IMNV 545 R	AACCCATATCTATTGTCGCTGGAT	134 pb	AY570982
Sonda TaqMan® IMNV	FAM-CCACCTTTACTTTCAATACTACATCATCCCCGG-TAMRA		

ANDRADE T.P.D., SRISUVAN T., TANG K.F.J. & LIGHTNER D.V. (2007). Real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay using TaqMan probe for detection and quantification of infectious myonecrosis virus (IMNV). *Aquaculture*, 264, 9–15.

Protocolo 2 – Primers WOH (2° Passo – nested – PCR) adapted for qPCR (SYBR)

ID Primer	Sequência 5'-3'	Amplicon	Acesso GenBank
IMNV 4725 NF	GGCACATGCTCAGAGACA		
IMNV 4863 NR	AGCGCTGAGTCCAGTCTTG	139 pb	KJ636783.2

POULOS B.T. & LIGHTNER D.V. (2006). Detection of infectious myonecrosis virus (IMNV) of penaeid shrimp by reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *Dis. Aquat. Org.*, 73, 69–72.

Protocolo 3 – Primers designed CEDECAM (not officially published) for qPCR (SYBR)

ID Primer	Sequência 5'-3'	Amplicon	Acesso GenBank
IMNV 340 F	TGACGGCACAAGAAGCAC		
IMNV 340 R	TCAAACATGTCCCACCCCTG	340 pb	NC_007915.3

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Protocolo 1 – Primers WOH specific for qPCR, together with probe of hydrolysis

Gráfico de Amplificação para a detecção de IMNV – Protocolo 1

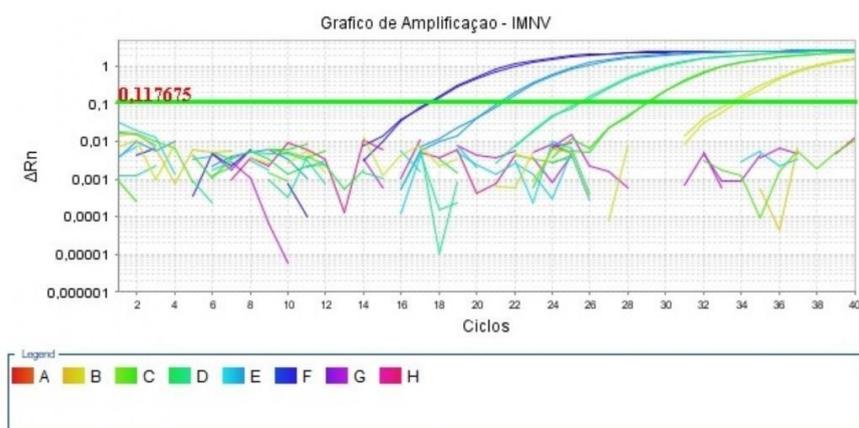


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Curva Padrão para IMNV – Protocolo 1

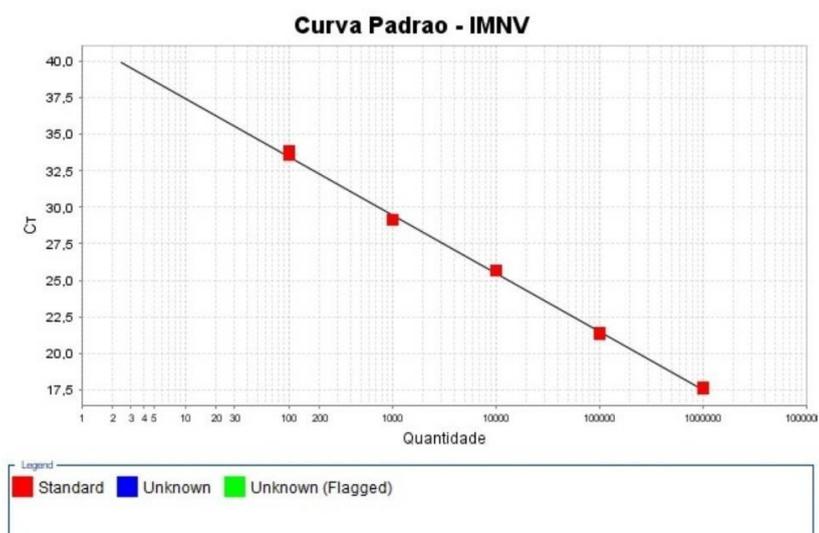


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Protocolo 2 – Primers WOA (2º Passo – nested – PCR) adaptado para qPCR (SYBR)

Gráfico de Amplificação para a detecção de IMNV – Protocolo 2

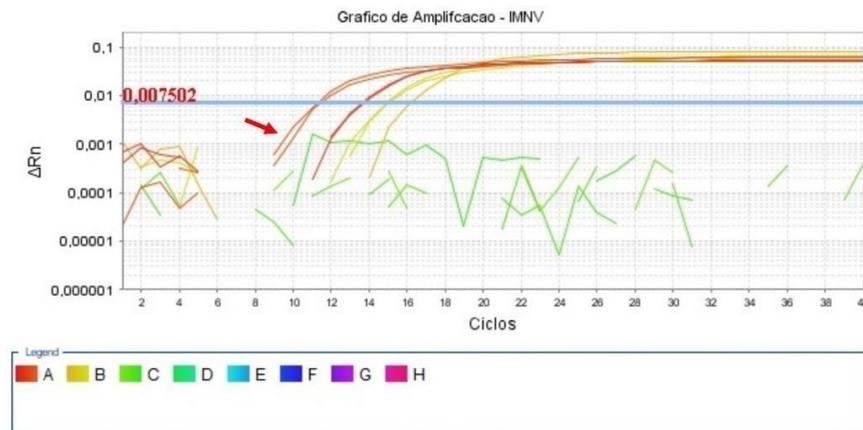


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Curva de Melting para IMNV – Protocolo 2

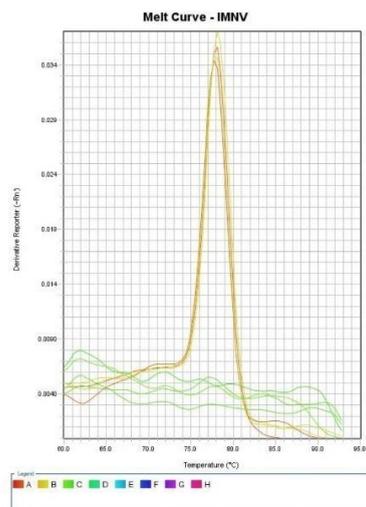


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081
 Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Protocolo 3 – Primers desenhado CEDECAM (não publicado oficialmente) para qPCR (SYBR)

Gráfico de Amplificação para a detecção de IMNV – Protocolo 3



Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Curva de Melting para IMNV – Protocolo 3

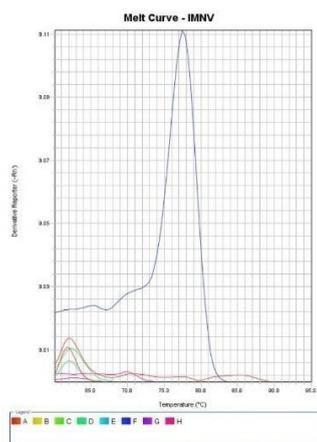


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



RESUMO DO DIAGNÓSTICO VIRAL

DADOS GERAIS	
Fazenda/Origem	Biotrends -Soluções Biotecnológicas
Localidade	Eusébio-CE
Número de Amostras	5
Dia de recebimento	11 de Outubro de 2023
Vírus Analisados	Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV) e Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHNV)
Método	Quantitativo qPCR / TaqMan Reagentes e Qualitativo SYBR Green Reagentes
Material analisado	Camarão <i>Penaeus vannamei</i>

RESULTADOS

Amostra	WSSV	IHHNV
T1	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T2	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T3	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T4	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T5	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



RELATÓRIO DESCRITIVO DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR

A BIOTRENDS SOLUÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

Fortaleza, 19 de Outubro de 2023

A presente análise molecular foi realizada a partir de CINCO amostras denominadas “T1”, “T2”, “T3”, “T4” e “T5”. Após análise qualitativa por qPCR em tempo real, utilizando os sistemas de detecção SYBR Green/TaqMan Reagents® e a plataforma ABI 7500 (Applied Biosystems®) para a detecção dos vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) e vírus da infecção hipodermal e necrose hematopoiética (IHHNV), tem-se os resultados a seguir especificados:

Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV)

Material Analisado: Camarão *Penaeus vannamei*

Qualidade da Amostra no recebimento: **Satisfatória**

Quantidade de DNA extraído: **Satisfatória**

Amostra Repetições	WSSV		Carga Viral (cópias de WSSV/ μ g de DNA)
	Repetição 1	Repetição 2	
T1	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T2	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T3	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T4	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T5	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO

Conclusão diagnóstica:

- WSSV não foi detectado nas amostras “T1”, “T2”, “T3”, “T4” e “T5”.

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHNV)

Material Analisado: Camarão *Penaeus vannamei*

Qualidade da Amostra no recebimento: **Satisfatória**

Quantidade de DNA extraído: **Satisfatória**

Amostra Repetições	IHNV		Carga Viral (cópias de IHNV/ μ g de DNA)
	Repetição 1	Repetição 2	
T1	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T2	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T3	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T4	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO
T5	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO	NÃO DETECTADO

Conclusão diagnóstica:

- IHNV não foi detectado nas amostras “T1”, “T2”, “T3”, “T4” e “T5”.

Primers utilizados para Detecção de WSSV e IHNV

ID Primer	Sequência 5'-3'	Amplicon	Acesso GenBank
WSS1011F	TGGTCCGTCCTCATCTCAG		
WSS1079R	GCTGCCTTGCCGGAATTA	69 pb	AF332103

Fonte: OIE(2009)

ID Primer	Sequência 5'-3'	Amplicon	Acesso GenBank
IHNV1608F	TACTCCGGACACCCAACCA		
IHNV1688R	GGCTCTGGCAGCAAAGGTAA	80 pb	-

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Gráfico de Amplificação para a detecção de WSSV

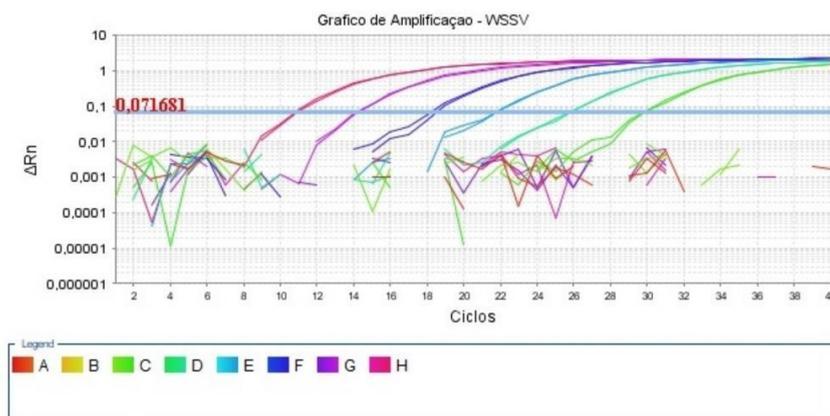


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Curva Padrão para WSSV

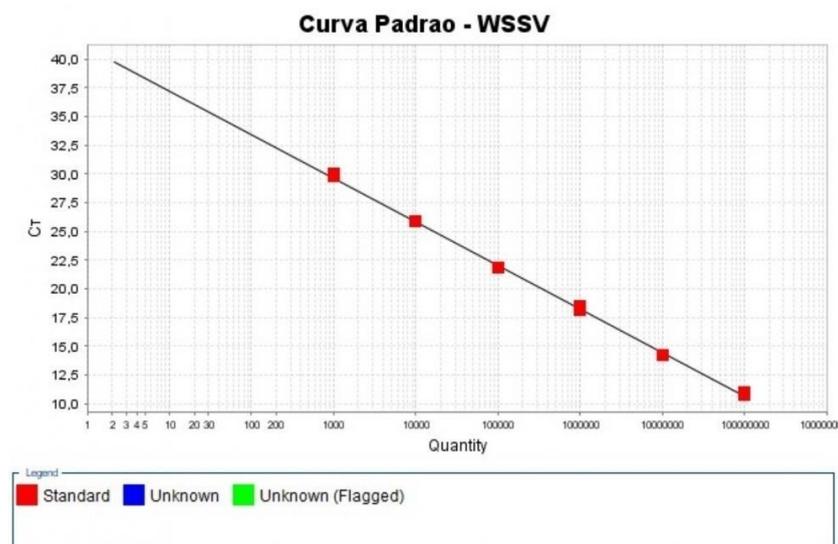


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
 Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
 Universidade Federal do Ceará



Gráfico de Amplificação para a detecção de IHNV

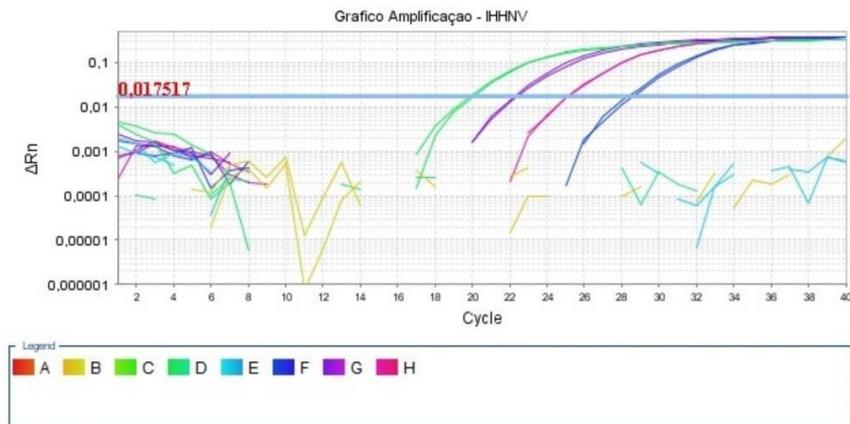


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Curva Padrão adaptada para IHNV

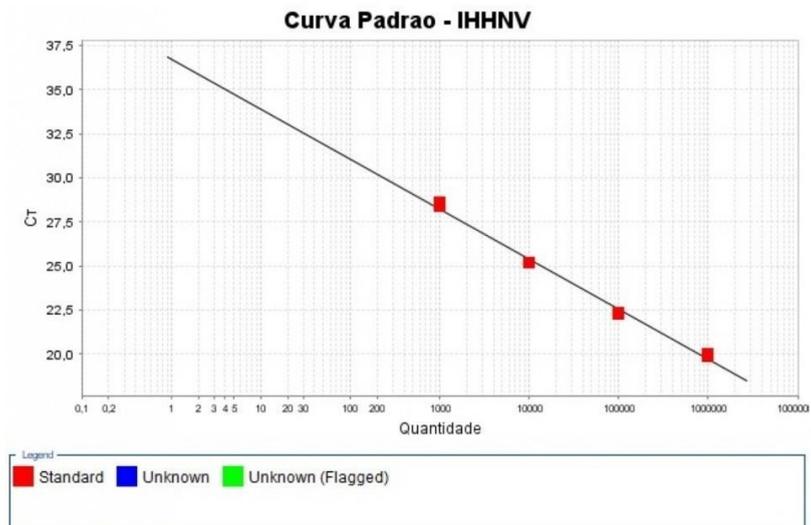


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028



Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM
Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
Universidade Federal do Ceará



Curva de Melting para IHNV

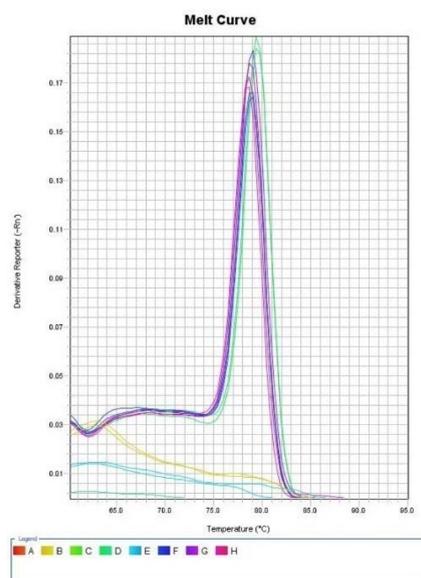


Gráfico obtido no Software7500 v.2.3 (Applied Biosystems)

Endereço: Avenida Abolição, 3207- Fortaleza, Ceará, 60165-081

Telefones: +55 85 33667011 ou +55 85 33667028