



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR – LABOMAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS**

LUIZ ROCLAYTON NOGUEIRA BASTOS

**EFEITO DA ACIDIFICAÇÃO DA RAÇÃO COM OS ÁCIDOS FÓRMICO E
LIGNOSSULFÔNICO SOBRE A FISIOLOGIA DIGESTIVA E DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DO CAMARÃO *Penaeus vannamei***

**FORTALEZA
2025**

LUIZ ROCLAYTON NOGUEIRA BASTOS

FEFEITO DA ACIDIFICAÇÃO DA RAÇÃO COM OS ÁCIDOS FÓRMICO E
LIGNOSSULFÔNICO SOBRE A FISIOLOGIA DIGESTIVA E DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DO CAMARÃO *Penaeus vannamei*

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhais Tropicais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências Marinhais Tropicais. Área de concentração: Utilização e Manejo de Ecossistemas Marinhos e Estuarinos..

Orientador: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes
Coorientadora: Dra. Daniele Ferreira Marques

FORTALEZA

2025

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)

B329e Bastos, Luiz Ro Clayton Nogueira.
EFEITO DA ACIDIFICAÇÃO DA RAÇÃO COM OS ÁCIDOS FÓRMICO E LIGNOSSULFÔNICO SOBRE
A FISIOLOGIA DIGESTIVA E DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DO CAMARÃO *Penaeus*
vannamei / Luiz Ro Clayton Nogueira Bastos. – 2025.
79 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2025.

Orientação: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes.

Coorientação: Profa. Dra. Daniele Ferreira Marques.

1. ácidos orgânicos. 2. carcinicultura. 3. nutrição animal. I. Título.

CDD 551.46

LUIZ ROCLAYTON NOGUEIRA BASTOS

FEFEITO DA ACIDIFICAÇÃO DA RAÇÃO COM OS ÁCIDOS FÓRMICO E
LIGNOSSULFÔNICO SOBRE A FISIOLOGIA DIGESTIVA E DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DO CAMARÃO *Penaeus vannamei*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhais Tropicais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências Marinhais Tropicais. Área de concentração: Utilização e Manejo de Ecossistemas Marinhos e Estuarinos.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Oscar Pacheco Passos Neto
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Rafael dos Santos Rocha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Se eu cheguei até aqui é devido ao suporte de muitas pessoas e instituições, desde já, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que eu lograsse êxito em meus estudos, registro meu mais profundo agradecimento.

Em primeiríssimo lugar, ao meu pai, que acreditou em mim e me deu suporte material e emocional mesmo quando nem eu mesmo acreditei.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e ao Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) pela oportunidade, pelos conhecimentos recebidos e por terem aberto minha mente para um mundo novo de possibilidades profissionais e pessoais.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes, que se mostrou um orientador valioso, humano e bondoso, que me acolheu, ofertou o melhor em estrutura disponível e diversas lições de conhecimento técnico, profissional e humano.

À Higienizo, empresa que forneceu suporte financeiro ao meu experimento, com transparência e sempre visando o alto padrão científico.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) que ofertou a base para meus estudos e viabilizou minha permanência nesta universidade até aqui, em uma iniciativa louvável do Governo do Estado do Ceará.

À minha Co-orientadora, Dra. Daniele Marques, aos funcionários do LANOA, que ainda estão na ativa ou não (em especial Sandrinha, Júnior, Rayssa e Antônio Carlos) e aos diversos estagiários que me deram apoio durante e após a realização dos meus experimentos. Aos funcionários do Centro de Diagnóstico de Enfermidades de organismos aquáticos (CEDECAM), em especial à Dra. Graça e ao Dr. Rafael, que me acolheram e contribuíram para meu amadurecimento no decorrer desse mestrado e materialmente forneceram espaço e estrutura para realização da histologia do trabalho.

Aos demais, meus familiares, companheiro e amigos verdadeiros.

Recebam todos, esse singelo gesto de gratidão.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os impactos da acidificação da ração sobre a fisiologia digestiva, desempenho zootécnico e saúde intestinal de juvenis do camarão *Penaeus vannamei* em condições experimentais. Foram testadas três formulações: controle (sem acidificante), 5 g/kg e 15 g/kg de ácidos, aplicados por pulverização. Durante 84 dias, camarões com peso inicial de $1,99 \pm 0,31$ g, foram estocados em 15 tanques circulares de $0,5 \text{ m}^3$, mantidos em área coberta, com monitoramento de parâmetros zootécnicos e fisiológicos. Para determinar a lixiviação dos ácidos, o pH das rações foi medido nos tempos 0 (antes da imersão), 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min. após a imersão em água. Também foi determinado o pH do conteúdo do proventrículo, hepatopâncreas e intestino posterior de camarões, nos tempos 15 e 30 após a oferta de ração dos três tratamentos. Realizado ainda testes histológicos para verificar estado de saúde e possíveis danos ao trato gastrointestinal em 45 animais (15 animais por tratamento). Os resultados revelaram que os camarões alimentados com a ração acidificada a 5 g/kg alcançaram uma maior sobrevivência final ($92,0 \pm 4,1\%$) do que aqueles alimentados com 15 g/kg ($82,5 \pm 6,8\%$) ou com a ração controle ($81,0 \pm 4,5\%$; $P = 0,013$), bem como a ração com 15 g/kg de ácido resultou em um peso corporal final mais elevado ($13,10 \pm 1,59$ g) do que os demais ($11,67 \pm 2,35$ g e $11,94 \pm 1,63$ g) ($P < 0,05$). Não houve diferença estatística em outros parâmetros zootécnicos. A avaliação da lixiviação dos ácidos por imersão em ração íntegra e macerada demonstrou um aumento sucessivo no pH da ração após imersão em água em todos os tratamentos, nos tempos 0 (antes da imersão), 5, 10, 15, 20, 25 e 30 de imersão em água. As rações com 5 g/kg e 15 g/kg apresentaram uma variância significativamente superior ao controle, com efeitos da acidificação após 30 minutos de exposição à agua. Em paralelo, as rações tratadas mantiveram pH significativamente reduzido (<6.6) no trato digestivo (proventrículo e hepatopâncreas) por até 30 minutos, reforçando a efetividade do método. No exame histológico, evidenciou-se a saúde digestiva satisfatória dos animais analisados, havendo achados condizentes com a presença de *Vibrio spp.* e resposta inflamatória em todos os tratamentos. As amostras dos animais expostos à alimentação acidificada, por sua vez, além de evidenciarem um efeito protetor da integridade dos túbulos e celularidades do hepatopâncreas, quando comparados ao controle não apresentaram danos aos tecidos decorrentes da exposição aos ácidos orgânicos. Conclui-se que a inclusão de 5g/kg Da solução de ácidos otimiza a sobrevivência e mimetiza os melhores resultados ao observar os dados sob prisma do desempenho e sanidade, enquanto a inclusão de 15g/kg favorece o crescimento final dos animais, ambas com efeitos protetores comprovados na morfologia digestiva frente à infecção

por *Vibrio spp*. A técnica mostrou-se viável para aplicação prática na carcinicultura.

Palavras-chave: ácidos orgânicos; carcinicultura; nutrição animal.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the impacts of feed acidification on the digestive physiology, zootechnical performance, and intestinal health of juvenile *Penaeus vannamei* shrimp under experimental conditions. Three formulations were tested: control (no acidifier), 5 g/kg, and 15 g/kg of acids applied by spraying. For 84 days, shrimp with an initial weight of 1.99 ± 0.31 g were stocked in 15 circular 0.5 m^3 tanks maintained in a covered area, with monitoring of zootechnical and physiological parameters. To determine acid leaching, feed pH was measured at 0 (pre-immersion), 5, 10, 15, 20, 25, and 30 min after water immersion. pH of the proventriculus, hepatopancreas, and posterior intestine contents was also determined at 15 and 30 min after feed offering across treatments. Histological tests were performed on 45 animals (15 per treatment) to assess health status and possible gastrointestinal tract damage. Results revealed that shrimp fed the 5 g/kg acidified diet achieved higher final survival ($92.0 \pm 4.1\%$) than those fed 15 g/kg ($82.5 \pm 6.8\%$) or the control diet ($81.0 \pm 4.5\%$; $P = 0.013$), while the 15 g/kg acid diet resulted in higher final body weight (13.10 ± 1.59 g) compared to others (11.67 ± 2.35 g and 11.94 ± 1.63 g; $P < 0.05$). No statistical differences occurred in other zootechnical parameters. Acid leaching assessment by immersion of intact and ground feed showed a successive pH increase in all treatments after water immersion at 0, 5, 10, 15, 20, 25, and 30 min. Diets with 5 g/kg and 15 g/kg exhibited significantly higher variance than control, with acidification effects active after 30 min of water exposure. Treated feeds maintained significantly reduced pH (<6.6) in the digestive tract (proventriculus and hepatopancreas) for up to 30 min, reinforcing method effectiveness. In the histological examination, the satisfactory digestive health of the analyzed animals was evidenced, with findings consistent with the presence of *Vibrio* spp. and an inflammatory response in all treatments. The samples from the animals exposed to the acidified feed, in turn, in addition to showing a protective effect on the integrity of the hepatopancreas tubules and cellularity, when compared to the control, did not show tissue damage resulting from exposure to organic acids. It is concluded that the inclusion of 5g/kg of the acid solution optimizes survival and mimics the best results when observing the data from the perspective of performance and health, while the inclusion of 15g/kg favors the final growth of the animals, both with proven protective effects on the digestive morphology against infection by *Vibrio* spp. The technique proved to be viable for practical application in shrimp farming.

Keywords: organic acids; carciniculture; animal nutrition.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Visão panorâmica do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA) onde foi realizado o estudo.....	7
Figura 2 -	Processo de revestimento da ração com o acidificante líquido por meio do uso de misturador e pulverizador.....	28
Figura 3 -	Em destaque, os tanques utilizados no estudo antes da estocagem dos camarões.....	29
Figura 4 -	Transporte de PLs em sacos plásticos seguido da coleta de amostras para análise de RT-PCR	30
Figura 5 -	Testes de imersão das rações íntegras e maceradas em intervalos de 5 minutos.....	35
Figura 6 -	Processo de extração do sistema digestivo dos camarões, incluindo o estômago, hepatopâncreas e intestino médio, para determinação do pH aos 15 e 30 minutos pós alimentação.....	34
Figura 7 -	Variação diária da salinidade (g/L), temperatura (°C) e pH durante o ciclo de cultivo de camarões juvenis alimentados com e sem acidificante.....	38
Figura 8 -	pH da ração comercial com e sem acidificante.....	40
Figura 9 -	Comparação das médias (\pm erro padrão) de pH da ração inteira e macerada ao longo de um intervalo de 30 minutos de imersão em água.....	40
Figura 10 -	Peso corporal dos camarões (g, média \pm erro padrão) ao longo do período experimental de cultivo de 84 dias.....	44
Figura 11 -	pH da ração e do trato digestivo (conteúdo do proventrículo, hepatopâncreas e intestino médio e posterior) dos camarões após 15 e 30 minutos da alimentação com as rações controle e suplementadas com 0,5 e 15 g/kg de ácido orgânico.....	45
Figura 12 -	Fotomicrografia do intestino de <i>P. vannamei</i>	48
Figura 13 -	Fotomicrografia do tecido muscular de <i>P. vannamei</i>	49
Figura 14 -	Fotomicrografia dos tecidos hepatopancreático e linfóide de <i>P. vannamei</i> ...	50
Figura 15 -	Fotomicrografia do tecido hepatopancreático de <i>P. vannamei</i>	52
Figura 16 -	Fotomicrografia do tecido hepatopancreático de <i>P. vannamei</i> em corte transversal evidenciando deformidade dos túbulos com predominância patogênica de células B, fissuras e necroses (CTL).....	53

Figura 17 - Fotomicrografia do tecido hepatopancreático de <i>P. vannamei</i> , evidenciando alterações patogênicas.....	54
Figura 18 - Fotomicrografia do tecido hepatopancreático de <i>P. vannamei</i> , evidenciado estruturas anatômicas.....	55
Figura 19 - Frequência de ocorrência de achados histológicos entre os grupos controle, PX5 e PX15 (%).	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Desempenho zootécnico (média ± desvio padrão) dos camarões alimentados com ração comercial com e sem (CTL) incorporação de ácidos orgânicos.....	42
Tabela 2 - Alterações gastrointestinais e principais achados detectados através da histologia dos camarões alimentados com rações controle e com ácidos orgânicos.....	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	Crescimento da carcinicultura e importância para o cenário regional	15
2.2	Conceitos e utilização de ácidos orgânicos na alimentação animal	16
2.2.1	Conceituações acerca do Ácido fórmico e do Ácido lignosufônico na alimentação animal	18
2.2.2	Ácidos orgânicos na alimentação de organismos aquáticos	19
2.3	Sistema Digestivo dos Camarões Peneídeos	22
2.4	Vibriose e sistema imune de camarões peneídeos	23
3	MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1	Local do estudo e desenho experimental	29
3.2	Revestimento da ração com o ácido orgânico	30
3.3	Qualidade da água e manutenção de sistemas	30
3.4	Recepção e estocagem das pós-larvas e juvenis	33
3.5	Alimentação dos camarões, monitoramento e manejo da água	34
3.6	Testes de imersão para verificação da lixiviação dos ácidos orgânicos	35
3.7	ANÁLISE DO pH DO ESTÔMAGO, HEPATOPÂNCREAS E INTESTINO PÓS-DESPESCA	36
3.8	ANÁLISE HISTOLÓGICA	38
3.9	Desempenho zootécnico	39
3.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
4	RESULTADOS	39
4.1	Parâmetros de qualidade da água	39
4.2	pH da ração após a fabricação e imersão em água	40
4.3	Desempenho zootécnico dos camarões	42
4.4	pH do Trato Digestivo do Camarão após a alimentação	45
4.5	Análises Histológicas e sanidade dos camarões	47
5	DISCUSSÃO	59
5.1	Parâmetros de desempenho	59
5.2	Método de incorporação, testes de imersão e acidificação do trato gastrointestinal	61
5.3	Exame histológico	63

6	CONCLUSÕES	67
	REFERÊNCIAS	68

1 INTRODUÇÃO

O mercado dos ácidos orgânicos, utilizados em larga escala na agricultura e alimentação animal, tem crescido de forma exponencial com o avanço de pesquisas científicas, em especial por seu caráter antimicrobiano. Em 2015, esse mercado movimentou 1 bilhão de euros, valor que atingiu 12,35 bilhões de euros em 2024, além de contar com diversas projeções positivas de expansão para os próximos anos (NAIR *et al.*, 2024).

O crescimento desse mercado se deve à consolidação de pesquisas na área de alimentação animal, que evidenciam os benefícios dos ácidos orgânicos no desempenho zootécnico e na melhoria da sanidade nos animais tratados com esses compostos. No âmbito da carcinicultura, diversas publicações relatam efeitos positivos para a sobrevivência do *Penaeus vannamei* e de outras espécies marinhas. Defoirdt *et al.* (2006), por exemplo, em estudos de desafio realizados com *Artemia franciscana* infectadas com *Vibrio* spp., observaram aumento considerável na sobrevivência dos indivíduos tratados com os ácidos carboxílicos de cadeira curta (ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e ácido valérico), em doses acima de 2,04 g/kg. Yowaphui, Rairat e Chuchird (2016) também demonstraram que a utilização de ácidos orgânicos, em especial do ácido fórmico, na dose de 3 g/kg, aumentou significativamente a taxa de sobrevivência e o desempenho zootécnico do *P. vannamei* após desafio com *Vibrio parahaemolyticus*, alcançando 58% de sobrevivência nos indivíduos alimentados com ração acidificada, em comparação a 36,5% no grupo controle negativo.

Chuchird, Rorkwiree e Rairat (2015) evidenciaram, por meio de experimentos *in vivo* e testes moleculares, a redução de patógenos intestinais e o aumento considerável da sobrevivência no *P. vannamei*, tanto infectados quanto não infectados com cepas patogênicas de *V. parahaemolyticus*, utilizando doses entre 3 e 6 g/kg de ácido fórmico (associado a 0,05 g/kg de astaxantina), pulverizado em ração comercial peletizada. Os autores relacionaram os benefícios observados, como a melhoria da saúde intestinal e a capacidade de imunomodulação, ao desempenho dos animais.

Além de pesquisas *in vivo*, estudos laboratoriais *in vitro* também contribuíram para consolidar o entendimento atual sobre o uso de acidificantes. Em experimentos utilizando meios de cultura em ágar, foram cultivadas cinco espécies patogênicas de *Vibrio* spp. (*V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* e *V. cholerae*) as quais foram expostas a diferentes ácidos *in vitro*, destacando-se o efeito inibitório desses compostos a partir da dose de 0,35 g/kg de ácido fórmico em meio aquoso (ADAMS; BOOPATHY, 2013).

A carcinicultura do *P. vannamei*, um dos setores mais dinâmicos da aquicultura

mundial, responsável por cerca de 80 % da produção de camarão marinho destinada ao mercado global, tem incorporado o uso de ácidos orgânicos como alternativa à práticas em desuso, como utilização de antibióticos, no controle de doenças oportunistas causadas por *Vibrio* spp., especialmente *V. parahaemolyticus*, considerado um dos fatores limitantes da produtividade em sistemas de cultivo de camarões (FAO, 2022; SOTO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2015).

Nesse contexto, estratégias nutricionais baseadas em ácidos orgânicos, como o ácido fórmico e o lignossulfônico, têm se mostrado promissoras para aliarem melhorias no desempenho zootécnico e na imunomodulação (GU; NI; WANG, 2024). O objetivo do presente estudo, sob essa perspectiva, foi avaliar o efeito da acidificação de uma ração comercial com os ácidos fórmico e lignossulfônico sobre o desempenho zootécnico e a saúde digestiva de juvenis do *P. vannamei*, correlacionando parâmetros zootécnicos entre diferentes tratamentos, pH digestivo e achados morfológicos, a fim de elucidar a questão em diferentes níveis de análise.

Para tanto o estudo visou realizar experimento *in vivo* para analisar os parâmetros zootécnicos dos camarões submetidos ou não à ração acidificada, visando verificar reflexos da utilização dos ácidos no desempenho dos animais, buscou-se ainda verificar os níveis de acidificação da ação exposta ao meio aquoso a partir de testes de imersão, bem como dos níveis de acidificação do próprio trato gastrointestinal dos camarões através de teste de pH, além de histologia de amostragem de camarões de cada tratamento para observação de alterações morfofisiológicas e verificação do estado geral de saúde dos indivíduos ao final do experimento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Crescimento da carcinicultura e importância para o cenário regional

A produção de crustáceos tem expandido em todo o mundo, em especialmente na Ásia e na América Latina, alcançando 10,3 milhões de ton. Essa produção fica atrás apenas da de peixes ósseos (57,5 milhões de ton.) e moluscos (17,6 milhões de ton.). Desse total, 6,8 milhões de ton. correspondem ao cultivo de camarões marinhos, sendo o *P. vannamei* a principal espécie nesse contexto (FAO, 2024).

Em comparação, entre 2016 e 2020, a pesca mundial de camarões apresentou tendência de redução, com taxa de -1,82%, enquanto a carcinicultura (ramo da aquicultura) registrou crescimento médio de 8,99% ao ano (FAO, 2023). Atualmente a aquicultura é responsável por atender a maior parte da demanda mundial por camarões da espécie *P. vannamei*, a mais

cultivada no mundo, respondendo por mais de 80% da produção global do crustáceo (FAO, 2022, 2024).

No Brasil, de acordo com os dados mais recentes do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção nacional de camarões em 2023 foi de 127,5 mil ton., sendo 97% desse total proveniente da Região Nordeste, especialmente nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba. Nessa região, o camarão cultivado é a espécie *P. vannamei*, que domina a carcinicultura nacional (BRASIL, 2023).

Com o crescimento da aquicultura, especialmente da carcinicultura, surgiram desafios significativos para a manutenção e a expansão do setor. As limitações envolvem tanto fatores socioeconômicos, como os altos custos de produção e a dependência do mercado em relação à farinha e óleo de peixe, quanto a necessidade de tornar a atividade mais sustentável, o que impõe adaptações nos sistemas produtivos. Além disso, os produtores ainda enfrentam desafios críticos relacionados à sanidade e à biossegurança, os quais podem limitar o desempenho e a sobrevivência dos organismos cultivados e, quando negligenciados, comprometer a produção (TACON; METIAN, 2015).

2.2 Conceitos e utilização de ácidos orgânicos na alimentação animal

Na busca pela modernização da carcinicultura e pela expansão da atividade, especialmente nos aspectos relacionados à nutrição e à sanidade animal, cientistas e produtores têm utilizado diversas estratégias, incluindo o uso de aditivos, probióticos, fitobióticos e imunoestimulantes. Nesse contexto, os ácidos orgânicos surgem como uma alternativa para o cultivo de organismos aquáticos, apresentando resultados positivos na alimentação de diferentes espécies animais, tanto monogástricas quanto poligástricas, incluindo aves, suínos e bovinos (LUISE *et al.*, 2017; REIS *et al.*, 2024; YOWAPHUI; RAITAI; CHUCHIRD, 2016).

A ação antimicrobiana previamente conhecida desses compostos, aliada à melhoria da digestibilidade em diferentes espécies, tem sido amplamente respaldada por evidências científicas e bem recebida pelas indústrias alimentícias principalmente pelo fato de a acidificação da alimentação reduzir a dependência do uso de fármacos e produtos químicos. Essa prática se apresenta como uma alternativa promissora para mitigar o fenômeno da resistência bacteriana, que limita o tratamento de infecções pelas gerações conhecidas de fármacos antibacterianos frente à capacidade de evolução dos patógenos, os quais, geração após geração, desenvolvem cepas cada vez mais resistentes (DEFOIRDT *et al.*, 2006; SAUGET *et al.*, 2023; VARGAS, 2014).

Conceptualmente, os ácidos orgânicos são compostos químicos de propriedades ácidas,

geralmente derivados de alimentos, microrganismos ou matérias-primas de origem animal, contendo ao menos um carbono (C) e pelo menos um grupo carboxila (-COOH). Na agroindústria e na alimentação animal, esses compostos são utilizados principalmente como aditivos, conservantes, melhoradores de digestibilidade e moduladores da microbiota intestinal (CHAHARDOLI *et al.*, 2020; LÜCKSTÄDT *et al.*, 2014).

Os efeitos dos ácidos orgânicos têm sido relatados há décadas, principalmente pelo seu efeito conservante, estando associados a bons resultados na higiene e no armazenamento de alimentos na indústria. Esses compostos suprimem o crescimento de bolores e patógenos bacterianos, permitindo melhor aproveitamento de recursos alimentares, como silagens, forragens, grãos e, mais recentemente, na indústria de rações (LÜCKSTÄDT, 2008; LÜCKSTÄDT *et al.*, 2014).

Os ácidos orgânicos podem ainda ser classificados de acordo com o tamanho de suas cadeias carbônicas, sendo geralmente agrupados em cadeias curtas, médias e longas. Os ácidos de cadeia curta (SCFAs) possuem até seis átomos de carbono, como o ácido fórmico, acético e butírico. Esses são geralmente mais voláteis, solúveis em água e apresentam mecanismos de dissociação que resultam em ação rápida de acidificação do meio, sendo comumente utilizados na indústria como conservantes e aromatizantes. Os ácidos de cadeia média (MCFAs) possuem entre seis e 12 átomos de carbono, apresentam solubilidade intermediária e possuem propriedades antimicrobianas e antifúngicas. Já os ácidos de cadeia longa (LCFAs) contêm mais de 12 átomos de carbono, como o ácido esteárico e oleico, sendo caracterizado por baixa solubilidade (hidrofobia) e reduzida capacidade de acidificação do meio, sendo úteis na manufatura de óleos, lubrificantes e sabões (CHAHARDOLI *et al.*, 2020).

Em paralelo, os compostos orgânicos ácidos podem ser classificados como fracos ou fortes com base em sua capacidade de ionização em solução aquosa e nos valores de pKa. O pKa é um logaritmo utilizado para mensurar a capacidade de dissociação ácida em solução aquosa. Quanto menor o pKa, mais forte é o ácido, pois se ioniza mais facilmente (a exemplo do ácido sulfônico, $pKa \approx 1$). Ácidos fracos têm pKa mais altos (como exemplo o ácido acético, $pKa \approx 4,75$), com dissociação parcial.

A reação em comento ocorre quando a estrutura molecular desses compostos (grupos eletronegativos ou doadores de elétrons) é exposta a um meio aquoso ou não, influenciando o pKa, estabilizando ou desestabilizando o ânion formado após a perda do próton (H^+). Além da pKa, o tamanho da molécula e suas ligações influenciam diretamente fatores como dissociação, solubilidade, acidificação do meio, entre outros (ANDERSSON; OLSSON; STIPP, 2014; DIXON; JURS, 1993; PERRIN; DEMPSEY; SERJEANT, 1981).

A acidificação do meio ocorre pela liberação de íons hidrogênio (H^+), o que está diretamente relacionado à força e à estrutura molecular dos ácidos envolvidos. No caso, os ácidos carboxílicos (ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico, etc) são considerados substâncias seguras doadoras de íons H^+ com baixa toxicidade (DEFOIRDT *et al.*, 2006; FORNÓS; ORIOL, 2025).

Diversos desses ácidos têm sido utilizados na acidificação de dietas animais, isolados ou em conjunto com outros ácidos ou aditivos, utilizando-se técnicas diversas de incorporação. Os compostos mais utilizados são os ácidos orgânicos de cadeia curta, incluindo o ácido fórmico ($HCOOH$), ácido acético (CH_3COOH), ácido propiônico (C_2H_5COOH), ácido butírico (C_3H_7COOH), ácido láctico ($C_3H_6O_3$) e ácido cítrico ($C_6H_8O_7$), assim como outros ácidos orgânicos de composição diversa, como o diformato de potássio $K(HCOO)_2$, propionato de sódio (C_2H_5COONa), butirato de cálcio ($C_4H_7O_2)_2Ca$, butirato de sódio ($C_4H_7O_2Na$), com variações a depender da origem (LÜCKSTÄDT *et al.*, 2014; ROMANO; KOH; NG, 2014).

Para Chahardoli *et al.* (2020), o motivo da escolha dos ácidos fracos na alimentação animal se dá pela natureza de fácil assimilação, alta solubilidade e baixa toxicidade, enquanto ácidos fortes podem causar danos aos tecidos animais. No entanto, independente do ácido, o fato preponderante no sucesso como fator antibacteriano é a capacidade de dissociação ou não no meio.

O mecanismo de ação dos ácidos orgânicos no trato digestivo baseia-se principalmente na sua capacidade de existir em duas formas químicas: dissociada e não dissociada. A forma não dissociada ($HCOOH$) é lipofílica, permitindo que o ácido atravesse passivamente as membranas celulares das bactérias. Uma vez dentro do citoplasma bacteriano, que possui pH próximo de neutro ($pH \sim 7$), o ácido se dissocia, liberando prótons (H^+) e ânions ($HCOO^-$) (formiato). Essa liberação de prótons acidifica o interior da célula bacteriana, interferindo nas funções enzimáticas e nos sistemas de transporte de nutrientes, o que pode levar à morte da bactéria (FORNÓS; ORIOL, 2025).

As bactérias do gênero *Vibrio* spp. possuem um pH ideal para multiplicação e viabilidade entre 7,8 e 8,6, sendo consideradas bactérias neutrofílicas, em contramão à maioria das células acidofílicas da microbiota íntima dos camarões (ROSA *et al.*, 2017).

O efeito imunomodulador tem sido amplamente relatado no controle e eliminação de bactérias patogênicas, bem como na estimulação de espécies benéficas adaptadas a ambientes ácidos, contribuindo significativamente para a saúde intestinal em importantes cadeias de produção animal, a exemplo de aves e suínos. Inicialmente, verifica-se pesquisas que se concentraram em aves, como no controle da *Salmonella* Gallinarum, zoonose de relevância

veterinária e humana, e na busca por melhorias no desempenho zootécnico de suínos, com implicações diretas na sanidade animal dado aumento do microbioma benéfico na porção final digestiva de suínos. Posteriormente, com a expansão da aquicultura, essas estratégias nutricionais passaram a ser aplicadas também à alimentação de organismos aquáticos (REIS et al., 2024; YOWAPHUI; RAITAI; CHUCHIRD, 2016).

2.2.1 Conceituações acerca do ácido fórmico e do ácido lignosulfônico na alimentação animal

O ácido fórmico, assim como outros ácidos carboxílicos se destaca atualmente, sendo amplamente utilizado para esse fim, com diversos trabalhos confirmando seus efeitos benéficos em parâmetros zootécnicos, como melhora da conversão alimentar, controle de microrganismos patogênicos e aumento da eficiência digestiva, através da imunomodulação da microbiota, com estudos apontando tal efeito claramente em monogástricos (LUISE et al., 2017). Trata-se de um ácido orgânico fraco, de cadeia curta, com pK_a em torno de 3,75, capaz de atravessar a membrana celular bacteriana em sua forma não dissociada e provocar a acidificação do citoplasma, interferindo em processos vitais. Embora tenha sido originalmente isolado de formigas vermelhas e fermentação bacteciana, o que lhe deu o nome (formica, em latim), o ácido fórmico utilizado na alimentação animal é produzido industrialmente por meio da reação de monóxido de carbono (CO) com hidróxido de sódio (NaOH), formando formiato de sódio, que é posteriormente acidificado com ácido sulfúrico (H_2SO_4) para gerar o ácido fórmico puro. Essa via sintética é amplamente empregada por sua segurança, custo-benefício e alta pureza do produto final (GHAI et al., 2023; LÜCKSTÄDT et al., 2014; PAVLOVIC, et al., 2016).

O ácido lignossulfônico, em contrapartida, é um composto de alto peso molecular derivado da lignina, tratando-se de um polímero natural presente na madeira e obtido, assim como outros derivados, através do método sulfito, como subproduto da indústria de papel e celulose (FATEHI, 2017). Embora contenha grupos sulfonato ($-SO_3H$), que possuem caráter de ácido forte (com pK_a abaixo de 1), esses grupos estão ligados a uma matriz polimérica grande e rígida, o que limita sua capacidade de dissociação completa no meio e sua penetração em células bacterianas (CHAHARDOLI et al., 2020). Assim, o ácido lignossulfônico não atua como um ácido forte livre em solução, apesar de estar quimicamente próximo aos sulfonatos, grupos potencialmente fortes. Seu uso na alimentação animal é mais relacionado, conforme a literatura consultada, com suas propriedades físico-químicas, tais como, dentre outras citadas, aglutinante e quelante, promovendo a coesão física dos *pellets*, reduzindo a formação de poeira

e aumentando a estabilidade do alimento durante o armazenamento e transporte. Sua contribuição para a acidificação do meio é limitada e secundária, sendo seu papel principal de natureza tecnológica (FATEHI, 2017; NASCIMENTO; FERRAZ; BIAGI, 2014).

No Brasil, a Instrução Normativa nº 51, de 03 de agosto de 2020, exarada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) regulamenta o uso desses ácidos na alimentação animal, sendo o ácido fórmico considerado “conservante” e ácido lignosulfônico (lignossulfonato) considerado “adsorvente”, “antiaglutinante” e “antiumectante”. Apesar de autorizar o uso dos compostos, a legislação é omissa no tocante ao limite de uso, não estabelecendo doses ou retrições, o que se mostra preocupante para a saúde humana e animal (BRASIL, 2020).

2.2.2 Ácidos orgânicos na alimentação de organismos aquáticos

Na alimentação de organismos aquáticos, assim com nos animais terrestres, o interesse em estudar a acidificação e utilização de ácidos orgânicos surgiu devido aos desafios relacionados à inviabilidade técnica, financeira e sanitária do uso em larga escala de antibióticos na aquicultura, atividade em constante expansão no país. Além disso, há estudos robustos em espécies, por exemplo, de peixes e camarões peneídeos, acerca do alto potencial do surgimento de cepas bacterianas resistentes ao uso desses fármacos em curto prazo (NG; KOH, 2014; NGUYEN, *et al.* 2023).

Além do efeito bactericida e bacteriostático amplamente relatado, a utilização de ácidos orgânicos tem se mostrado promissora na melhoria da resposta imune e desempenho zootécnico de animais aquáticos, em mecanismos que diferem significativamente daqueles observados em monogástricos terrestres, em virtude de particularidades anatômicas, fisiológicas e ambientais relacionadas ao meio aquoso (DEFOIRDT *et al.*, 2006; HE *et al.*, 2017; HE *et al.*, 2017; LÜCKSTÄDT *et al.*, 2014; YOWAPHUI; RAITAI; CHUCHIRD, 2016).

A ação dos ácidos orgânicos envolve sua passagem pela membrana bacteriana na forma não dissociada, o que ocorre mais facilmente em ambientes com pH ácido ou neutro. Uma vez no interior da célula bacteriana, onde o pH tende a ser levemente alcalino, principalmente em relação ao meio intestinal de monogástricos, o ácido se dissocia, liberando íons H⁺. Essa acidificação intracelular, por sua vez, compromete enzimas, proteínas estruturais e o metabolismo bacteriano, levando à inibição do crescimento ou à morte celular (CHAHARDOLI *et al.*, 2020; CHOWDHURY *et al.*, 2021; DEFOIRDT *et al.*, 2006; RICKE *et al.*, 2020). A eficácia antimicrobiana é maior em pH ácido (5-6), devido à forma não dissociada

dos ácidos (DEFOIRDT *et al.*, 2006).

Contudo, há desafios relativos à lixiviação dos ácidos para o meio aquoso antes da ingestão pelos animais, fenômeno diretamente influenciado pela solubilidade dos compostos empregados. Ácidos de cadeia curta, como o ácido fórmico, caracterizam-se por elevada solubilidade em água e rápida dissociação em água de pH neutro, o que favorece a acidificação imediata do meio, mas também resulta em uma perda acelerada dos compostos para a água, diminuindo sua eficácia (CHAHARDOLI *et al.*, 2020; FORNÓS; ORIOL, 2025).

Nos vertebrados aquáticos, animais monogástricos de trato intestinal relativamente longo, assim como aves e suínos, as enzimas digestivas são ácidas, o que facilita a acidificação do meio e a passagem do ácido na forma não dissociada pela membrana celular. Pesquisas sugerem que a acidificação moderada da dieta pode estimular a ação das enzimas digestivas em peixes, a exemplo das proteases, melhorando a eficiência digestiva, ao passo que os resíduos ácidos (como acetato, fumarato, succinato, butirato e propionato) podem ser aproveitados no ciclo de Krebs e em outros mecanismos de formação de proteínas e ATP para células do meio (a exemplo dos enterócitos). Os métodos de estabilização da ração em meio aquoso, em peixes, por sua vez, visam atender às características digestivas desses organismos, a fim de que o efeito acidificador chegue até as últimas porções intestinais, garantindo a ação sobre bactérias no intestino dos animais e evitando a toxicidade do excesso de acidificação (KUMAR *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2022; OTHMAN *et al.*, 2023; RIMOLDI *et al.*, 2018).

A anatomia da espécie pode representar limitações adicionais. No caso de invertebrados como camarões peneídeos, que possuem digestão em meio levemente alcalino (pH 7,0 a 8,5), limita-se ainda mais o efeito desses ácidos, que tendem a se dissociar mais rapidamente antes de adentrarem no citosol bacteriano. Há necessidade do desenvolvimento de métodos para manter a integridade do *pellet* ou retardar a perda desse composto para a água, garantindo a entrada do ácido e a liberação dos protóns necessariamente no interior das células bacterianas para obtenção do efeito desejado (CHOWDHURY *et al.*, 2021; LIU *et al.* 2014; YAO *et al.*, 2019).

Para mitigar essas perdas e garantir uma acidificação eficiente no trato digestivo, diversas técnicas de incorporação dos ácidos nos *pellets* têm sido estudadas. Dentre as técnicas relatadas destacam-se o revestimento superficial dos *pellets* (YOWAPHUI; RAITAI; CHUCHIRD, 2016), diferentes tipos de microencapsulamento (CHOWDHURY *et al.*, 2021; LIU *et al.* 2014; ROMANO; KOH; NG, 2014; YAO *et al.*, 2019), associação com óleos essenciais ou lignosulfonatos (entre outras substâncias aglutinantes ou hidrofóbicas) (HE *et al.*, 2017; NASCIMENTO; FERRAZ; BIAGI, 2014), extrusão (HASSAAN *et al.*, 2014), técnicas de

secagem rápida, dentre outras, que visam não apenas acidificar a superfície do alimento, mas também incorporar o ácido em camadas internas ou estabilizar a ação da lixiviação sob o *pellet* em contato com água, visando uma liberação gradual dos compostos no ambiente aquático (HE *et al.*, 2017; ROMANO; KOH; NG, 2014).

Alguns trabalhos sugerem ainda benefícios relacionados à melhor atratividade em rações acidificadas com sais orgânicos, em testes realizados com juvenis do *P. vannamei* em doses de até 20 g/kg de ração (SILVA *et al.* 2016).

O tipo de ácido a ser utilizado, portanto, e sua interação com a matéria do *pellet* e com a água desempenham papel determinante na eficiência da acidificação. O ácido lignossulfônico, por exemplo, por apresentar uma estrutura polimérica complexa, alta massa molecular, e ligações de difícil dissociação, mostra-se mais eficaz como agente estabilizador do *pellet*, reduzindo a taxa de lixiviação e promovendo maior integridade estrutural da ração. Contudo, esse ácido possui um efeito antimicrobiano limitado e poucos estudos acerca de sua dissociação e resíduos, apesar de sua estrutura de origem vegetal possuir potencial para aproveitamento prebiótico como fonte de alimento para bactérias benéficas (FATEHI, 2017; NASCIMENTO; FERRAZ; BIAGI, 2014).

2.3 Sistema Digestivo dos Camarões Peneídeos

A anatomia e fisiologia do hepatopâncreas, também chamado de glândula digestiva, dos camarões peneídeos são fatores preponderantes para o sucesso da alimentação acidificada. O trato gastrointestinal, as enzimas digestivas, os hábitos alimentares e outros fatores, juntamente com o meio aquático, devem ser considerados para o desenvolvimento de rações adequadas à espécie.

Os camarões peneídeos são animais onívoros e necrófagos. Seus hábitos alimentares consistem na manipulação do alimento por meio dos maxilípedes, que o levam à boca em pequenas porções. Mesmo em ambientes controlados, os camarões podem demorar a consumir o alimento, comportamento semelhante ao observado na natureza (BUARQUE, 2008).

Após a ingestão, o alimento passa pela boca e chega ao próventrículo, onde sofre ações mecânicas promovidas por músculos e dentes calcificados que tritaram as partículas alimentares, permitindo sua passagem para o intestino anterior e, posteriormente, para a glândula digestiva, ou hepatopâncreas. Este órgão é o principal responsável pela digestão e absorção de nutrientes, realizando digestão tanto extracelular quanto intracelular (ROMANO *et al.*, 2015).

O hepatopâncreas dos camarões apresenta células organizadas em túbulos, com quatro tipos principais de células: F, B, R e E. As células F (fibrilares) produzem e secretam enzimas digestivas, responsáveis pela digestão extracelular no lúmen dos túbulos. Entre essas enzimas estão a tripsina, quimotripsina, amilase, lipase e fosfatases (BUARQUE, 2008; CHOWDHURY *et al.*, 2021). As células B (vesiculares ou de bolha) atuam principalmente na digestão intracelular por meio da formação de vacúolos digestivos, além de estarem envolvidas no armazenamento de nutrientes digeridos, especialmente lipídeos (ROMANO *et al.*, 2015). As células R (de reabsorção) absorvem nutrientes, em especial lipídeos, e participam da digestão intracelular, contribuindo também para o armazenamento de energia (YAO *et al.*, 2019). As células E (embrionárias ou indiferenciadas) estão localizadas na base dos túbulos, sendo responsáveis pela renovação celular contínua do epitélio do hepatopâncreas, se diferenciando nos demais tipos celulares (BUARQUE, 2008).

Nos túbulos do hepatopâncreas ocorre a secreção enzimática e a absorção de nutrientes. A digestão extracelular é iniciada no lúmen dos túbulos por enzimas como tripsina, lipases, fosfatases ácidas e alcalinas, e carboidrases, que degradam os alimentos parcialmente (BUARQUE, 2008). Posteriormente, os nutrientes parcialmente digeridos são internalizados pelas células B e R, onde ocorre digestão intracelular em vacúolos digestivos. Outra parte do alimento segue, em menor grau, para reabsorção pelas vilosidades intestinais posteriores (ROMANO *et al.*, 2015).

A maturação das células do hepatopâncreas e a formação dos vacúolos digestivos podem levar de 2 a 6 horas, variando conforme a espécie de peneídeo e condições ambientais como temperatura, tipo de alimento e tempo de jejum (YAO *et al.*, 2019; CHOWDHURY *et al.*, 2021).

As enzimas digestivas funcionam de forma mais eficiente em pH alcalino, ao contrário dos vertebrados monogástricos, o que é uma característica marcante no trato intestinal dos camarões. No entanto, para a administração de ácidos orgânicos (AO) e seus sais (SAO), é necessário evitar a sua dissociação precoce, motivo pelo qual a indústria tem empregado técnicas para melhorar a estabilidade da ração, a exemplo da microencapsulação (CHOWDHURY *et al.*, 2021).

Além da microencapsulação, outras abordagens tecnológicas têm sido exploradas para o fornecimento eficiente de acidificantes em dietas aquáticas. A pulverização a frio ou *spray coating* com óleos vegetais ou lipídios é uma alternativa viável e de menor custo, embora apresente menor controle sobre o ponto de liberação no trato digestivo. Outra estratégia é o uso combinado de ácidos orgânicos com óleos essenciais, que possuem propriedades

antimicrobianas e atual de forma sinérgica com os acidificantes. He *et al.* (2017) demonstraram que a suplementação de uma mistura contendo 25% de ácido cítrico, 16,7% de ácido sórbico, 1,7% de timol e 1,0% de vanilina (AviPlus®), promoveu alterações benéficas na microbiota intestinal, aumento da abundância de *Firmicutes* e *Lactobacillus*, além da modulação positiva de genes imunológicos em *P. vannamei*.

Apesar dos avanços no uso de aditivos acidificantes em camarões peneídeos, considerando a singularidade do seu trato digestivo curto, com predominância de pH alcalino e absorção intensa no hepatopâncreas, torna-se indispensável o aprofundamento de pesquisas sobre técnicas de liberação gradual que garantam a eficácia da acidificação ao longo de todo o trato gastrointestinal. Apenas com essa adequação será possível otimizar o aproveitamento de nutrientes, melhorar a conversão alimentar e reforçar a saúde intestinal desses organismos em sistemas intensivos de cultivo.

2.4 Vibriose e sistema imune de camarões peneídeos

O sistema imune do camarão, como o de outros crustáceos, é apenas inato, ou seja, não possui memória imunológica adaptativa como ocorre em vertebrados. Ele se baseia em mecanismos celulares e humorais para a defesa contra patógenos, e está intimamente relacionado a estruturas como hemócitos, atividade da fenoloxidase, resposta inflamatória, necrose e vacuolização (LIGHTNER, 1993).

Os camarões peneídeos não possuem anticorpos verdadeiros (imunidade adaptativa), portanto, não apresentam uma resposta imune adaptativa, o que torna a espécie sensível à colonização por patógenos (SÖDERHÄLL; CERENIUS, 1998). Em contrapartida, essas espécies apresentam uma barreira física passiva representada pelo rígido exoesqueleto quitinoso, além de um sistema imunológico inato, composto por hemócitos, os quais estão presentes na hemolinfa e atuam na resposta a patógenos (CORDEIRO, 2021). O sistema de defesa dos crustáceos é baseado em efetores celulares e humorais, que se combinam para eliminar microrganismos potencialmente infecciosos. Os hemócitos são cruciais nessas reações imunitárias sendo capazes de fagocitose, encapsulação, formação de nódulos e citotoxicidade (RENDÓN; BALCÁZAR, 2003).

O hepatopâncreas, por sua vez, funciona como um indicador de saúde em camarões. Alterações em suas células (como vacuolização, necroses e melanizações) podem sinalizar a presença de patógenos, inflamações, desnutrição, deficiências, entre outros fatores. Esse sistema está intimamente ligado a um tecido conjuntivo fróxio e ao tecido linfoide que libera

constantemente essas celularidades para defesa imunológica do animal (CHOWDHURY *et al.*, 2021).

Ruiz *et al.* (2020), em testes realizados com *Macrobrachium carcinus*, afirmam que, além de estarem relacionadas com às funções digestivas, as células do hepatopâncreas (F-, B-, R-, E- e M-) também se relacionam com respostas ao estresse inflamatório. Vacúolos encontrados ocasionalmente nas células B podem indicar acúmulo de resíduos ou processos de degradação intracelular associados à infecção ou injúria, além de evidenciarem a capacidade de morte celular programada ou necrose dessas células em casos patológicos, o que gera liberação de conteúdo celular no lúmen e ativação da imunidade local.

Dentre os achados microscópicos mais importantes, as vacuolizações estão mais relacionadas à atividade de patógenos virais, enquanto as infiltrações hemocíticas são achados característicos de infecções bacterianas. Esses achados podem ocorrer tanto no hepatopâncreas, quanto em outros tecidos, como brânquias, tecidos conjuntivos adjacentes e musculatura (FIGUEIRÔA, 2013).

No presente estudo, conforme laudo acostado no Apêndice I, os camarões da espécie *P. vannamei* utilizados encontram-se livres de doenças infecciosas, como o Vírus da Mancha Branca (WSSV) e o Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV). Contudo, atualmente as criações de camarões convivem, em sua própria microbiota íntima, com infecções por cepas oportunistas de *Vibrio* spp. Naturalmente, *Vibrio* spp. fazem parte da microbiota do *P. vannamei*, mas podem se tornar patogênicos em condições de estresse ou desequilíbrio ambiental, afetando negativamente a saúde dos camarões (MURRAY *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2021; ZHOU; ZHENG; HE, 2025).

A vibriose é reconhecida como uma das principais barreiras produtivas e sanitárias na carcinicultura, impactando negativamente todas as fases do cultivo de camarões e sendo responsável por prejuízos econômicos significativos (MENDES *et al.*, 2005).

O agente etiológico pertence ao filo *Proteobacteria*, classe *Gammaproteobacteria*, e família *Vibrionaceae*, caracterizando-se como bacilos curvos ou retos, Gram-negativos, heterotróficos e anaeróbios facultativos. Medem de 0,5 a 0,8 μm de diâmetro por 1,4 a 2,4 μm de comprimento, e são dotados de motilidade conferida por flagelo polar único (CANELLAS, 2021; MURRAY *et al.*, 2015). Bioquimicamente, apresentam atividade oxidase-positiva, fermentam glicose sem produção de gás e reduzem nitrato (exceto *V. metschnikovii*). São também halófitos restritos, necessitando de sódio para crescer (MURRAY *et al.*, 2015), e neutrofilicos, preferindo ambientes com pH próximo da neutralidade. Esse perfil contrasta com o da maioria da microbiota íntima dos camarões, composta por bactérias mesófilas adaptadas a

variações de pH mais amplas, o que favorece a colonização por Vibrio em situações de desequilíbrio ambiental (ROSA *et al.*, 2017; PICOLO *et al.* 2017).

Os sinais clínicos incluem opacidade muscular, descoloração corporal, necrose da carapaça, melanização de tecidos (brânquias, musculatura, hepatopâncreas, entre outros), presença de granulomas. Comportamentalmente, camarões afetados demonstram fraqueza (letargia), nado desorientado, cauda em forma de grampo e podem apresentar bioluminescência ou mudanças no padrão de cores da carapaça (INTRIAGO, 1998). Em seres humanos algumas cepas podem causar gastroenterites (MURATORI, 2014).

As espécies mais associadas aos surtos incluem *V. alginolyticus*, *V. Harveyi* (associado à luminescência), *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. campbellii* (associado à luminescência), *V. mimicus* e *V. costicola*. Na larvicultura, *V. alginolyticus* é dominante, inclusive em indivíduos aparentemente saudáveis, sendo um dos agentes relacionados com a Síndrome da Zoa II, enquanto em adultos a infestação pode causar desde alterações macroscópicas resultando em falhas no crescimento, aumento da mortalidade, resposta inflamatória, até a doença aguda de necrose hepatopancreática (AHPND) em cepas mais virulentas, em especial *V. parahaemolyticus* portadoras do plasmídeo pVA1, que codifica as toxinas PirA e PirB, as quais possuem tropismo pelos hepatócitos, vilosidades intestinais e tecido conjuntivo do camarão (INTRIAGO, 1998; LEHMANN *et al.*, 2017).

A transmissão desses patógenos pode ocorrer por vias diversas: água contaminada, biofilmes nos tanques, uso de artêmia colonizada por cepas virais, reprodutores infectados ou práticas de manejo que comprometem a microbiota benéfica, a exemplo de superpopulações em sistemas sujeitos a altas temperaturas. A prevenção está diretamente relacionada à desinfecção adequada, segregação de lotes, renovação de água, controle de densidade e uso estratégico de probióticos e imunomoduladores. A identificação diagnóstica é realizada por análise microscópica de larvas moribundas, culturas seletivas e técnicas moleculares (TRAN *et al.*, 2013).

De acordo com Zhang (2019), Zhang *et al.* (2021) e Zhou, Zheng e He (2025), a infecção por *Vibrio* spp. em *P. vannamei* está fortemente associada a alterações na microbiota intestinal, com importantes implicações para a saúde e a imunidade dos camarões. Zhang *et al.* (2021) demonstraram que a presença de *Vibrio parahaemolyticus* causa disbiose intestinal, reduzindo a diversidade microbiana e favorecendo a proliferação de espécies patogênicas, além de comprometer a integridade da mucosa e provocar inflamação local. Já Zhou, Weng e He (2025) ressaltaram que infecções por *Vibrio* spp. induzem desequilíbrios na microbiota que prejudicam a homeostase do hospedeiro, afetando a digestão, a barreira epitelial intestinal e

ativando intensamente a resposta imune inata, com aumento de hemócitos e estresse oxidativo.

Assim, o achado de infiltração hemocítica e aumento de hemócitos está intrinsecamente ligado à infecção por *Vibrio spp.*, uma vez que essas bactérias ativam diretamente o sistema imune inato dos crustáceos, desencadeando respostas inflamatórias locais nos tecidos afetados (FIGUEIRÔA, 2013; LIGHTNER, 1993; TRAN *et al.*, 2013).

Ante o exposto percebe-se a susceptibilidade da espécie para a ser acometida pela referida bactéria diante da indisponibilidade do sistema imunológico de guardar memória, bem como o próprio processo de evolução do agente, que facilmente expressa fatores de virulência que originam cepas cada vez mais patogênicas para o camarão. Nesse ponto, insere-se a proposta de utilização de ácidos orgânicos, diante da ineficiência e inviabilidade técnica da utilização de antibióticos nesse tipo de cenário (NGUYEN *et al.* 2023). Em animais vertebrados como aves e suínos, assim como em camarões *P. vannamei*, há estudos sobre a capacidade dos ácidos orgânicos de imunomodular o trato gastrointestinal, sendo que a ração acidificada controla bactérias patogênicas, em especial Gram-negativas, privilegiando bactérias benéficas no trato gastrointestinal de mamíferos monogástricos até camarões peneídeos (HE *et al.*, 2017; VARGAS, 2014).

Em animais aquáticos monogástricos, destacam-se trabalhos com peixes que relacionam a imunomodulação do trato gastrointestinal com a melhoria da imunidade e desempenho dos animais. Othman *et al.* (2023) constataram que a inclusão dietética de ácido fórmico, em *Oreochromis niloticus*, na dose de 5 g/kg a longo prazo, aumenta o desempenho zootécnico, a biodisponibilidade de minerais e melhora a atividade imunológica contra agentes bacterianos, o que foi evidenciado pelo aumento dos níveis séricos e atividade da lisozima, enzima do sistema imune inato que lisa principalmente bactérias Gram-negativas patogênicas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local do estudo e desenho experimental

O presente estudo foi conduzido nas instalações experimentais de aquicultura do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA), integrado ao Centro de Estudos em Aquicultura Costeira (CEAC), do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizado no município de Eusébio, próximo ao estuário do rio Pacoti (coordenadas 3°50'01.55"S e 38°25'22.74"W) (Figura 1).

Figura 1 - Visão panorâmica do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA) onde foi realizado o estudo.



Fonte: Alberto Nunes (2024).

O estudo avaliou os efeitos de uma ração comercial suplementada com uma solução de ácidos orgânicos (Protacid OX, Higienizo Tecnicas Reunidas S.L.U., Barcelona, Espanha) sobre a fisiologia digestiva e desempenho zootécnico de juvenis do camarão *P. vannamei* cultivados em condições experimentais. Os tratamentos consistiram em um controle sem acidificante e em dois outros grupos alimentados com ração revestida com o acidificante nas concentrações de 5 e 15 g/kg de ração.

Foram empregados um total de 15 tanques de 0,5 m³, com cada tanque povoado inicialmente com 40 indivíduos, alimentados quatro vezes ao dia durante 84 dias. Semanalmente, o peso corporal dos camarões foi determinado por meio de biometrias, com a captura e a pesagem em balança de precisão de cinco indivíduos de cada tanque. Na despensa, todos os camarões foram contados e pesados individualmente para determinar a sobrevivência final, peso corporal, crescimento semanal, ganho de produtividade, consumo aparente de ração e fator de conversão alimentar (FCA). Adicionalmente, foram determinados os níveis de acidificação da ração, a lixiviação do composto ácido após a imersão em água, a acidificação do trato gastrointestinal dos camarões (estômago, hepatopancreas e intestino) e exame histológico do trato gastrointestinal e de outras estruturas para avaliar o estado de saúde dos animais ao final do experimento.

3.2 Revestimento da ração com o ácido orgânico

O acidificante comercial, apresentado na forma líquida, é composto 40% por ácido lignosulfônico e 60% de ácido fórmico, com pH de 0,3, e foi utilizado para revestir uma ração comercial voltada para engorda de camarões (SM Line 350 ST, Samaria Rações e Nutrição Animal Ltda., Maracanaú, Ceará). De acordo com os níveis de garantia, a ração continha um teor mínimo de 35% de proteína bruta (PB). Foram adotados os seguintes níveis de suplementação do ácido orgânico: 5 (PX5) e 15 g (PX15) por kg de ração comercial. Uma ração sem adição do acidificante foi utilizada como controle (CTL).

O revestimento foi preparado, misturando-se cada quantidade definida de acidificante comercial com o dobro da quantidade de água doce limpa, ou seja, para 5 g/kg de acidificante foram adicionados 10 g de água. A pesagem foi feita em uma balança eletrônica com precisão de duas casas decimais. A mistura foi então dispersa sobre a ração em um misturador mecânico, usando um pulverizador, até alcançar uma distribuição homogênea (Figura 2). Um total de 4 kg de ração foi preparado a cada três dias e armazenado em uma sala com temperatura controlada até o uso.

Figura 2 - Processo de revestimento da ração com o acidificante líquido por meio do uso de misturador e pulverizador. Da esquerda para a direita: A) pesagem de 4 kg de ração; B) preparo da solução contendo ácido orgânico e água; C) pulverização do ácido orgânico sobre a ração com o auxílio de pistola e misturador mecânico; D) medição do pH da ração com um pHmetro.



Fonte: Alberto Nunes (2024).

Para avaliar a acidificação da ração após o revestimento, o pH foi determinado após cada preparação. A medição foi realizada usando um medidor digital de pH (modelo HI9810302, Hanna Instruments Inc., Rhode Island, EUA).

Ao longo do estudo, o pH das rações, expostas ou não ao ácido, foi medido diariamente. A ração revestida que não fosse utilizada dentro de três dias foi descartada e um novo lote preparado. Essa abordagem garantiu a manutenção das condições experimentais e a homogeneidade do processo de acidificação ao longo do estudo.

3.3 Qualidade da água e manutenção de sistemas

O sistema de cultivo utilizado no estudo consistiu em 15 tanques independentes, mantidos em área coberta, cada um com capacidade de $0,5\text{ m}^3$ e uma área total de fundo de $0,57\text{ m}^2$ (Figura 3). Para garantir uma oxigenação adequada da água, foi empregada aeração difusa por meio de dois sopradores com potência individual de 2,0 cv conectados a tubulações de PVC. O ar foi incorporado à água de cultivo no fundo de cada tanque por meio de uma mangueira flexível de aeração com 0,5 m de comprimento (Aero-Tube™, Tekni-Plex Aeration, Austin, Texas, EUA). Durante todo o ciclo de cultivo, o sistema de aeração foi mantido ativo para assegurar a saturação de oxigênio dissolvido na água. Além disso, um gerador a diesel de 150 kVA foi utilizado como fonte de energia reserva para evitar interrupções em caso de falha elétrica.

Antes da estocagem dos camarões, todos os apetrechos de cultivo, incluindo tanques, tubulações de abastecimento e drenagem de água, tubos de aeração e bandejas de alimentação,

passaram por um rigoroso processo de limpeza e desinfecção. Inicialmente, as sujidades aderidas às paredes e ao fundo dos tanques foram removidas com um jato de alta pressão, e os resíduos descartados manualmente. Posteriormente, utilizou-se um agente desincrustante à base de ácido sulfúrico, diluído na proporção de 1 L para cada 50 L de água, que foi pulverizado nas paredes internas dos tanques, no fundo, bem como nas tubulações de abastecimento e drenagem. Essa solução permaneceu em contato por 24 h antes da aplicação de um desinfetante à base de ácido peracético, diluído na proporção de 1 L para cada 500 L de água. Para finalizar, os tanques foram enxaguados com água doce antes do enchimento com água de poço profundo, ajustada para uma salinidade de 5 g/L.

Figura 3 - Em destaque, os tanques utilizados no estudo, antes da estocagem dos camarões.



Fonte: Alberto Nunes (2024).

Após o enchimento dos tanques, iniciou-se a preparação da água por meio da adição de um probiótico comercial (BM-Pro, Biotrends Soluções Tecnológicas Ltda., Eusébio, Brasil), composto por um consórcio de microrganismos (*Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp. e *Saccharomyces cerevisiae*), ativado com água doce por um período de 2 h, seguido da adição de melaço de cana-de-açúcar fervido na proporção de 1:2 (probiótico:melaço). A mistura foi então fermentada em um recipiente limpo, sem aeração, por 24 h. Após esse período, a preparação fermentada foi aplicada nos tanques na dose de 53 mL por unidade, uma vez ao dia, durante três dias consecutivos antes da estocagem dos camarões.

3.4 Recepção e estocagem das pós-larvas e juvenis

As pós-larvas (PLs) utilizadas no presente estudo chegaram ao LANOA em 20 de abril de 2024. Foram adquiridas um total de 84.000 PL10 (PLs com 10 dias, 343 PLs por grama) do camarão *P. vannamei* provenientes da Larvicultura Havai Ltda. (São Bento do Norte, RN).

As PLs foram transportadas em sacos plásticos selados, sob a densidade de 8.000 PLs por saco, contendo água saturada em oxigênio dissolvido na salinidade de 15 g/L. Ao chegarem ao laboratório, as PLs foram submetidas imediatamente a um processo de aclimatação térmica, mantendo os sacos de transporte em contato com a água de cultivo por 30 min. (Figura 4).

Após a aclimatação, os camarões foram transferidos para seis tanques de 3.000 L, na densidade aproximada de 5 PLs/L, para um período de quarentena. Antes da estocagem, uma amostra de aproximadamente 500 camarões vivos foi coletada e fixada em álcool etílico com pureza entre 90 e 95% para a realização de testes de RT-PCR (transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase).

Figura 4 - Transporte de PLs em sacos plásticos seguido da coleta de amostras para análise de RT-PCR.



Fonte: Alberto Nunes (2024).

Testes de RT-PCR foram realizados para detecção do Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV) e Vírus da Mionecrose Infectiosa (IMNV). Os resultados da análise indicaram que as PLs estavam livres desses patógenos (Apêndice A).

Após seis dias de aclimatação e adaptação a salinidade de 15g/L, PLs com peso corporal médio de 15 mg, foram contadas utilizando um dispositivo inteligente portátil (XperCount2, XpertSea, Québec, Canadá) e estocadas em dois tanques berçário de 23 m³ (4,5 x 1,5 m de diâmetro x profundidade; 15,9 m² de área de fundo), na densidade de 0,5 PL/L.

Durante a fase de berçário, os camarões foram alimentados com uma ração comercial desintegrada contendo um mínimo de 40% de PB e 8% de EE. Após 54 dias de cultivo, os

animais foram capturados com auxílio de um puçá e transferidos para um sistema de tanques em área aberta, onde permaneceram por mais 14 dias antes de serem transferidos para os tanques experimentais. A transferência e estocagem dos camarões consistiu na pesagem individual em balança de precisão de 0,01 g. No total, 600 camarões juvenis, com peso médio (\pm desvio padrão) de $1,99 \pm 0,31$ g, foram distribuídos em 15 tanques sob a densidade de 71 animais/m² ou 40 camarões por tanque. A alimentação com as rações experimentais teve início um dia após a estocagem.

3.5 Alimentação dos camarões, monitoramento e manejo da água

Os camarões foram alimentados exclusivamente em bandejas de alimentação com 14,3 cm de diâmetro e bordas de 3,5 cm de altura, posicionadas no centro do fundo de cada tanque, em uma densidade de uma unidade por tanque. A oferta de ração ocorreu quatro vezes ao dia, às 07:00, 10:00, 13:00 e 16:00 h.

As refeições foram ofertadas diariamente em excesso, tendo como base as estimativas da biomassa estocada de camarão, as projeções diárias de crescimento e as taxas de alimentação para cada faixa de peso corporal. Para o cálculo das refeições, cinco camarões de cada tanque foram capturados aleatoriamente, pesados em balança de precisão e devolvidos para os respectivos tanques. As biometrias dos camarões tiveram início no 9º dia de cultivo e em seguida semanalmente, nos dias 16º, 23º, 30º, 37º, 44º, 51º, 58º, 65º e 72º de cultivo. As biometrias não foram realizadas dois dias antes e dois dias depois das fases de lua nova e cheia, levando em conta a fisiologia da espécie que realiza ecdise.

Com os dados de biometria, a média de peso corporal e o ganho de peso diário foram calculados para cada tanque de cultivo. Foi adotada uma queda diária de 0,21% na sobrevivência dos camarões, independente dos tratamentos adotados. Essas estimativas foram utilizadas para determinar as refeições diárias, com a adição de um percentual extra entre 10 e 30%, dependendo do consumo diário observado. O consumo alimentar foi acompanhado em cada horário de alimentação, por meio da verificação da presença de ração não consumida nas bandejas. Estas, quando presentes, foram coletadas, armazenadas sob refrigeração e posteriormente secas em estufa a 105°C por 24 h e pesadas para cálculo do consumo alimentar aparente.

Os parâmetros de qualidade da água, pH, temperatura e salinidade, foram monitorados diariamente em todos os tanques de cultivo. Não houve recirculação de água durante o período experimental, mas, a partir do 14º dia de cultivo, foi realizada uma troca semanal da água,

substituindo-se 12% do volume total de cada tanque por água proveniente de poço, de baixa salinidade, filtrada em filtro de areia.

Para controlar o acúmulo de compostos nitrogenados e estimular a microbiota do tanque, uma mistura comercial de probióticos foi utilizada, com dose inicial de cerca de 30 mL/m³ na preparação da água e posterior aplicação diária de cerca de 13,25 mL/m³/dia. A alcalinidade foi verificada semanalmente e, sempre que os níveis caíam abaixo de 150 mg/L de CaCO₃, aplicava-se uma solução de bicarbonato de sódio diluído para a devida correção.

3.6 Testes de imersão para verificação da lixiviação do ácido orgânico

Os testes de imersão do ácido no sistema de cultivo de camarões tiveram como finalidade determinar a permanência do ácido na ração, os níveis de acidificação alcançados e a duração de sua ação. O objetivo foi avaliar os percentuais de lixiviação do ácido em função do tempo de imersão da ração na água.

Inicialmente, foram realizadas medições do pH das rações CTL, PX5 e PX15, bem como do pH e da salinidade (pHmetro modelo HI98108 e salinômetro modelo HI98319, Hanna Instruments Inc., Romênia, respectivamente) da água dos tanques e da ração. A salinidade da água foi mantida em 4,4 g/L, em conformidade com as condições utilizadas no experimento de crescimento.

Para a realização dos testes, as rações foram divididas em porções de 30 g e distribuídas em conjuntos de seis bandejas de 15 cm, cada uma representando um período de imersão. As bandejas foram submersas simultaneamente em tanques de 0,5 m³, sendo que cada tanque recebeu amostras de apenas um tratamento alimentar. O experimento foi conduzido em três tanques distintos, contemplando os tratamentos CTL, PX5 e PX15, totalizando quatro ciclos de testes (Figura 5).

Figura 5 - Testes de imersão das rações íntegras e maceradas em intervalos de 5 minutos. (A) Conjunto de seis bandejas imersas preparadas para os testes; (B) Teste de pH com ração íntegra e (C) Teste de pH com ração macerada.



Fonte: Alberto Nunes (2024).

Os tempos de imersão considerados foram 0 (antes da imersão), 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos. Após o tempo estipulado, as bandejas foram retiradas individualmente e imediatamente aferidas quanto ao pH com um medidor portátil de pH (HALO2, modelo HI9810303, Hanna Instruments Inc., Rhode Island, EUA). As medições foram realizadas tanto nos *pellets* íntegros quanto após a maceração dos mesmos. Para cada tratamento e período de imersão, as medições foram repetidas cinco vezes ao longo de três dias consecutivos, permitindo o monitoramento das alterações de pH ao longo do tempo e em diferentes repetições.

3.7 Análise do pH do estômago, hepatopâncreas e intestino pós-despesca

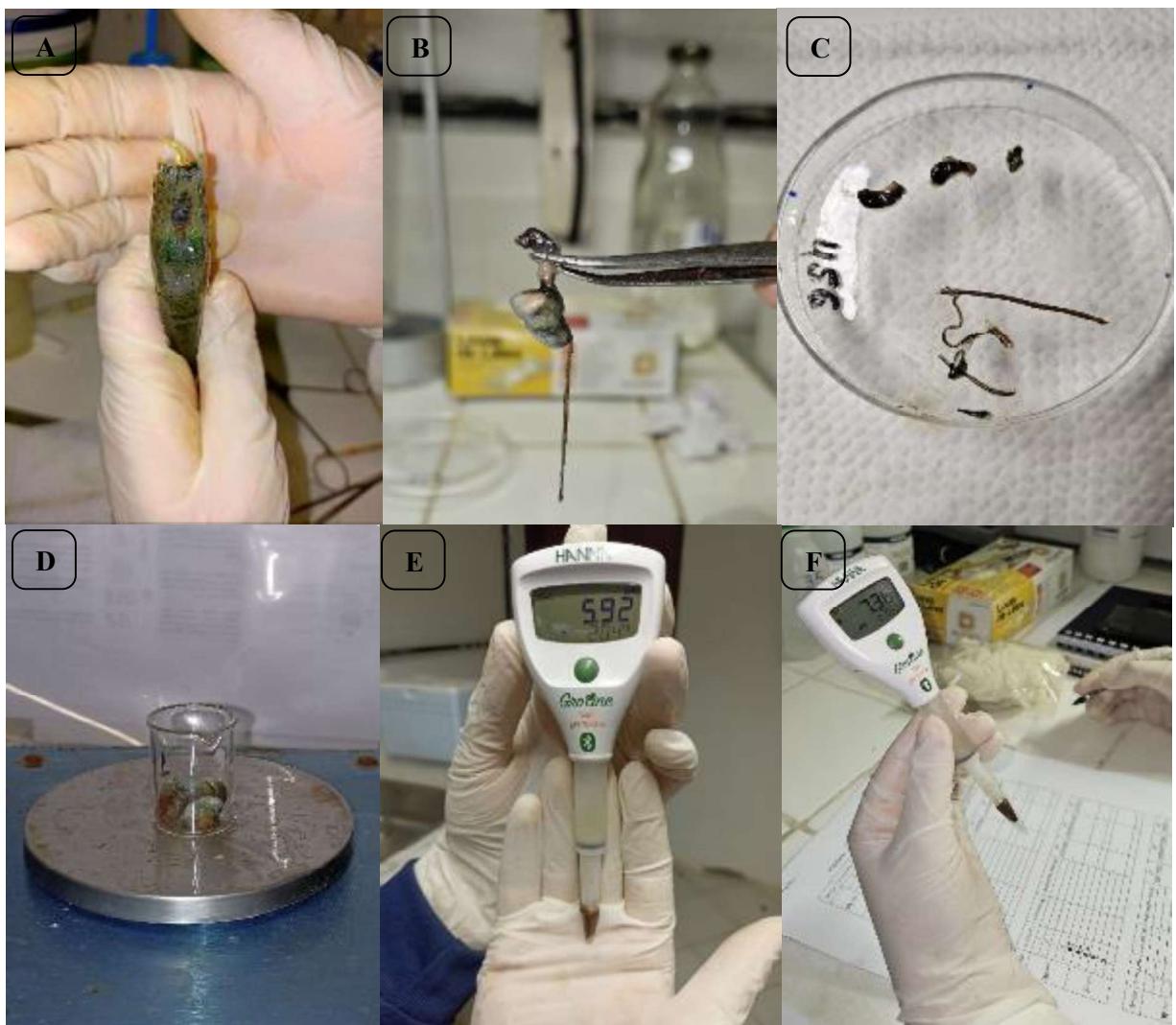
Além das análises do pH das rações, objetivou-se definir o tempo de ação e a intensidade de acidificação da solução no trato gastrointestinal dos camarões. Para isso, foram utilizados nove tanques adicionais, também mantidos em área coberta, com capacidade de 1,5 m³ (área de fundo de 1,61 m²), sendo três tanques destinados a cada tratamento dietético (CTL, PX5 e PX15).

Foram escolhidos indivíduos juvenis com peso corporal médio de $13,17 \pm 2,08$ g, os quais foram estocados a uma densidade de 80 indivíduos por tanque (50 camarões/m²) e alimentados exclusivamente em bandejas durante sete dias consecutivos com as rações de seus respectivos tratamentos. Optou-se por utilizar juvenis com mais dias de vida para facilitar a coleta da quantidade de amostra necessária para a análise de pH.

A amostragem consistiu na coleta de nove camarões por tanque, por vez, realizada aos 15 e 30 minutos após a alimentação com dieta acidificada. Os animais foram capturados com

uma rede e imediatamente sacrificados por imersão em gelo. Posteriormente, foram dissecados para extração do estômago (proventrículo), hepatopâncreas e intestino médio (Figura 6).

Figura 6 - Processo de extração do sistema digestivo dos camarões, incluindo o estômago, hepatopâncreas e intestino médio, para determinação do pH aos 15 e 30 pós alimentação. Em (A) observa-se o início da dissecação do camarão, após a retirada da parte superior da carapaça do céfalo-torax, expondo verticalmente o estômago, o hepatopâncreas e intestino médio; em (B) verifica-se o trato digestivo do animal dissecado; em (C) a separação das amostras de três indivíduos para obtenção de material suficiente para aferição; em (D) três hepatopâncreas dissecados para aferição; em (E) e (F) enfoque no medidor de pH utilizado na análise juntamente com os tubos do tipo Eppendorf.



Fonte: Arquivo do autor (2024).

No dia da execução deste protocolo, o pH das ração controle e acidificadas foi medido antes da oferta das mesmas aos animais. Os camarões foram gradualmente expostos às dietas, despescados, anestesiados em gelo, eutanasiados e pesados individualmente. Em seguida, foram

dissecados para a remoção do hepatopâncreas, que também foi pesado separadamente e teve o pH medido em grupos de três dos órgãos por vez, formando *pools*, conforme ilustrado no “item D” (Figura 6). O conteúdo dos estômagos e intestinos foi extraído e, também em grupos de três, teve o pH medido para cada região do trato digestivo. Assim, para garantir um volume suficiente de material biológico para a análise de pH, o conteúdo de nove camarões foi agrupado em três *pools* durante as medições.

No total, 27 camarões foram analisados para cada tempo (15, 30 e 60 minutos) e dieta (CTL, PX5 e PX15), gerando nove medições de pH para cada tempo e para cada tratamento dietético. No total, foram utilizados 243 animais neste experimento.

A determinação do pH intestinal foi realizada utilizando um medidor portátil de pH para solo, com precisão de $\pm 0,05$ pH. O equipamento possui um eletrodo de ponta cônica, permitindo medições diretas e precisas das amostras. O pHmetro foi calibrado antes de cada sessão de amostragem, e as medições foram realizadas com a inserção completa do eletrodo nas amostras, utilizando tubos tipo Eppendorf para apoio durante a aferição (Figura 6).

3.8 Análise Histológica

A metodologia consistiu na em uma análise clínica e qualitativa, visando realizar um exame geral de saúde dos animais, em especial da saúde digestiva. O processamento histológico seguiu uma metodologia adaptada (CUÉLLAR-ANJEL, 2014; BELL; LIGHTNER, 1988). Para a análise histológica foram selecionados quinze camarões de cada tratamento, três de cada tanque, retirados ao final do experimento no momento da despesca.

Primeiramente foi realizado exame presuntivo em todos os indivíduos para verificar achados macroscópicos relacionados a alterações em estruturas anatômicas e, posteriormente, os animais foram fixados em solução de Davidson's AFA (11,5% de ácido acético glacial, 22% de formaldeído a 37% e 33% de álcool etílico a 95%) por 48 horas. Após esse período, foram transferidos para álcool etílico a 70% para conservação até o processamento histológico. As amostras foram levadas processadas junto ao Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos (CEDECAM), em Fortaleza, Ceará, onde foram confeccionadas as lâminas e realizadas as análises histológicas.

A análise teve caráter clínico e qualitativo, visando a avaliação do trato gastrointestinal e estado geral de saúde dos animais. Foram escolhidas e preparadas, antes do emblocamento, as regiões mais adequadas para a visualização das estruturas digestivas: hepatopâncreas (corte

transversal), primeiro segmento abdominal (corte longitudinal) e sexto segmento abdominal (corte longitudinal).

Inicialmente, as amostras foram submetidas a um processo de desidratação em concentrações crescentes de álcool etílico a 70%, 80% e 100%. Em seguida, foram imersas em xanol por 2 horas para remoção de lipídios e abertura dos tecidos, sendo posteriormente colocadas em duas cubas com parafina líquida por 1 hora cada, garantindo a completa substituição da água pelos solventes e, em seguida, pela parafina. Após esse processo, foi realizado o emblocamento das amostras em parafina para posterior confecção das lâminas histológicas.

Após solidificarem as amostras foram cortadas em micrótomo com espessura de 5 μm . Os cortes obtidos foram fixados em lâminas previamente preparadas com uma fina camada de albumina, assegurando a aderência do material. Nesse momento as lâminas já estavam montadas, mas os tecidos estavam “transparentes”, sem nenhuma adição de corante, sendo necessário tal processo adicional para visualização microscópica.

Na fase de coloração utilizou-se a técnica de Hematoxilina & Eosina, que consistiu na reidratação das lâminas em dois recipientes contendo xanol por 5 minutos cada; seguida de passagens sucessivas em três cubas com álcool etílico a 95% por 5 minutos cada; após isso as amostras foram imersas em Hematoxilina por 20 segundos (primeiro corante); lavadas com água corrente e submetidas a um banho em álcool ácido (etanol com ácido acético) por 10 segundos para remoção do excesso do corante; passaram por nova lavagem onde foram, dessa vez, coradas com Eosina por 1 minuto; seguida de lavagens sucessivas em álcool a 95% e água destilada para remoção do excesso de corante. Em seguida, as amostras passaram por uma última etapa de desidratação em álcool a 95% por 2 minutos e 30 segundos e foram imersas novamente em duas cubas de xanol por 5 minutos cada.

Para montagem final das lâminas, utilizou-se o meio de montagem “*Permout*”, garantindo a preservação dos tecidos para análise microscópica. As lâminas foram analisadas por microscopia de luz (Leica®), permitindo a observação detalhada das estruturas digestivas, como hepatopâncreas, estômago, ceco anterior e posterior, intestino, além de estruturas associadas à saúde geral dos animais, como brânquias, tecido muscular, tecido conjuntivo e órgão linfoide.

No tocante à análise, os achados relativos às deformidades ou alterações patológicas no trato digestivo, nas regiões do proventrículo, hepatopâncreas e intestino, foram estruturados, sendo realizadas análises dessas três porções em cada indivíduo. Em paralelo, foram destacados

achados compatíveis com resposta inflamatória e outras alterações decorrentes da infecção por bactérias do gênero *Vibrio* spp., gerando dados quantificáveis para o estudo.

3.9 Desempenho zootécnico

Os camarões foram cultivados por um total de 84 dias. Na despesca, todos os camarões foram coletados, contados e pesados individualmente em balança com precisão de 0,01 g. Com esses dados, foram determinados os seguintes parâmetros:

1. Sobrevida final dos camarões (%) = (número de camarões despescados ÷ número de camarões estocados) × 100
2. Consumo aparente de ração (CAR, g de ração ofertada por camarão estocado) = quantidade total de ração fornecida ÷ [(número de camarões despescados – número de camarões estocados) × 2]
3. Fator de conversão alimentar (FCA, base natural) = consumo aparente total de ração por tanque ÷ ganho de peso corporal dos camarões por tanque
4. Taxa de crescimento semanal (g/semana) = ((peso corporal médio final – peso corporal médio inicial) ÷ dias de cultivo) × 7
5. Ganho de produtividade de camarões (g de biomassa ganha/m²) = biomassa ganha de camarões ÷ área do fundo do tanque (m²)

3.10 Análise estatística

O método estatístico utilizado para comparar as médias dos parâmetros de qualidade da água (pH, salinidade e temperatura), desempenho zootécnico dos camarões, pH das rações (controle e tratamentos) e pH intestinal em função das dietas experimentais foi a análise de variância unidirecional (*One-way ANOVA*). Quando identificadas diferenças significativas entre os grupos, as médias foram comparadas par a par utilizando o teste de Tukey HSD para identificação das diferenças específicas entre os tratamentos. Em todas as análises estatísticas foi adotado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software IBM® SPSS® Statistics 23.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EUA).

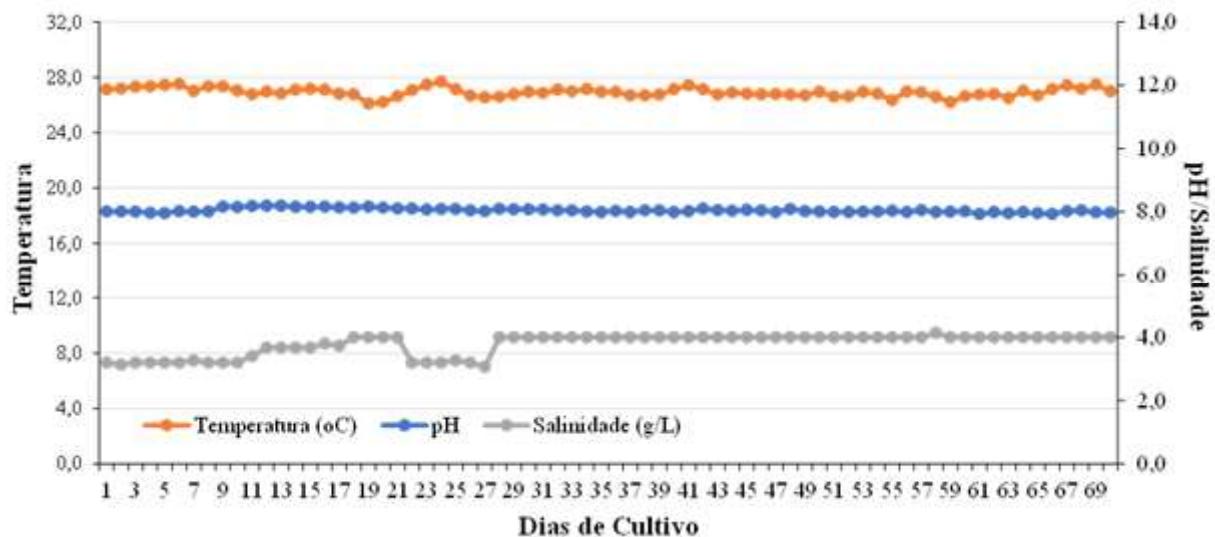
4 RESULTADOS

4.1 Parâmetros de qualidade da água

A qualidade da água permaneceu relativamente estável ao longo do período do estudo sem apresentar variações ou diferenças significativas entre os tanques/tratamentos (Figura 7). A salinidade, temperatura e pH apresentaram uma média (\pm dp) de $3,8 \pm 0,4$ g/L (n = 1.050), $26,9 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ (n = 1.050) e $8,0 \pm 0,1$, respectivamente.

Esses valores estão dentro da faixa considerada adequada para a criação de juvenis do *P. vannamei* em condições de baixa salinidade. A comparação entre o pH da água dos tanques que receberam diferentes concentrações do acidificante também não apresentou diferenças significativas, indicando que a incorporação do acidificante na ração comercial não influenciou o pH da água de forma significativa ($p > 0,05$).

Figura 7 - Variação diária da salinidade (g/L), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pH durante o ciclo de cultivo de camarões juvenis alimentados com e sem ração acidificada. Cada ponto de dado representa a média de 15 leituras, sendo uma de cada tanque de cultivo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

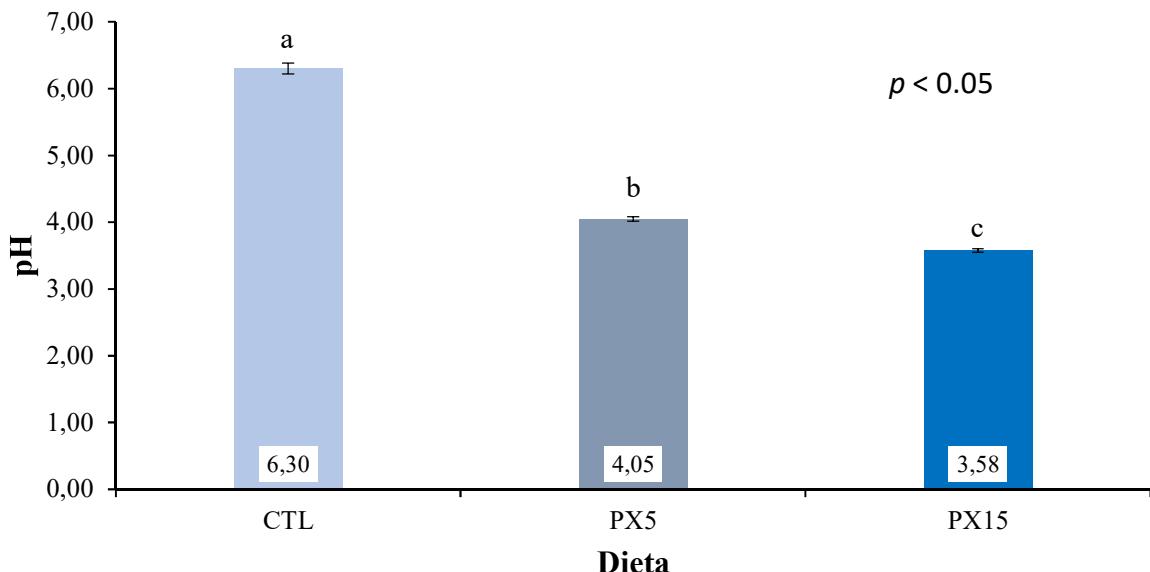
4.2 pH da ração após a fabricação e imersão em água

Os testes de imersão foram realizados com o objetivo de verificar a manutenção da acidificação dos *pellets* ao entrarem em contato com a água de cultivo. Além disso, buscou-se compreender a duração desse efeito acidificante e sua interação com o comportamento alimentar bentônico dos camarões, que apresentam um padrão de alimentação intermitente, consumindo a ração de forma gradual ao longo do tempo.

De forma geral, o revestimento da ração comercial com a solução acidificante impactou significativamente o pH dos *pellets*, com alterações distintas conforme cada tratamento,

permitindo a análise da média das amostras (Figura 8).

Figura 8 - pH da ração comercial com e sem acidificante comercial. Cada coluna representa a média (\pm erro padrão) de 36 leituras realizadas após a incorporação do ácido orgânico na ração.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

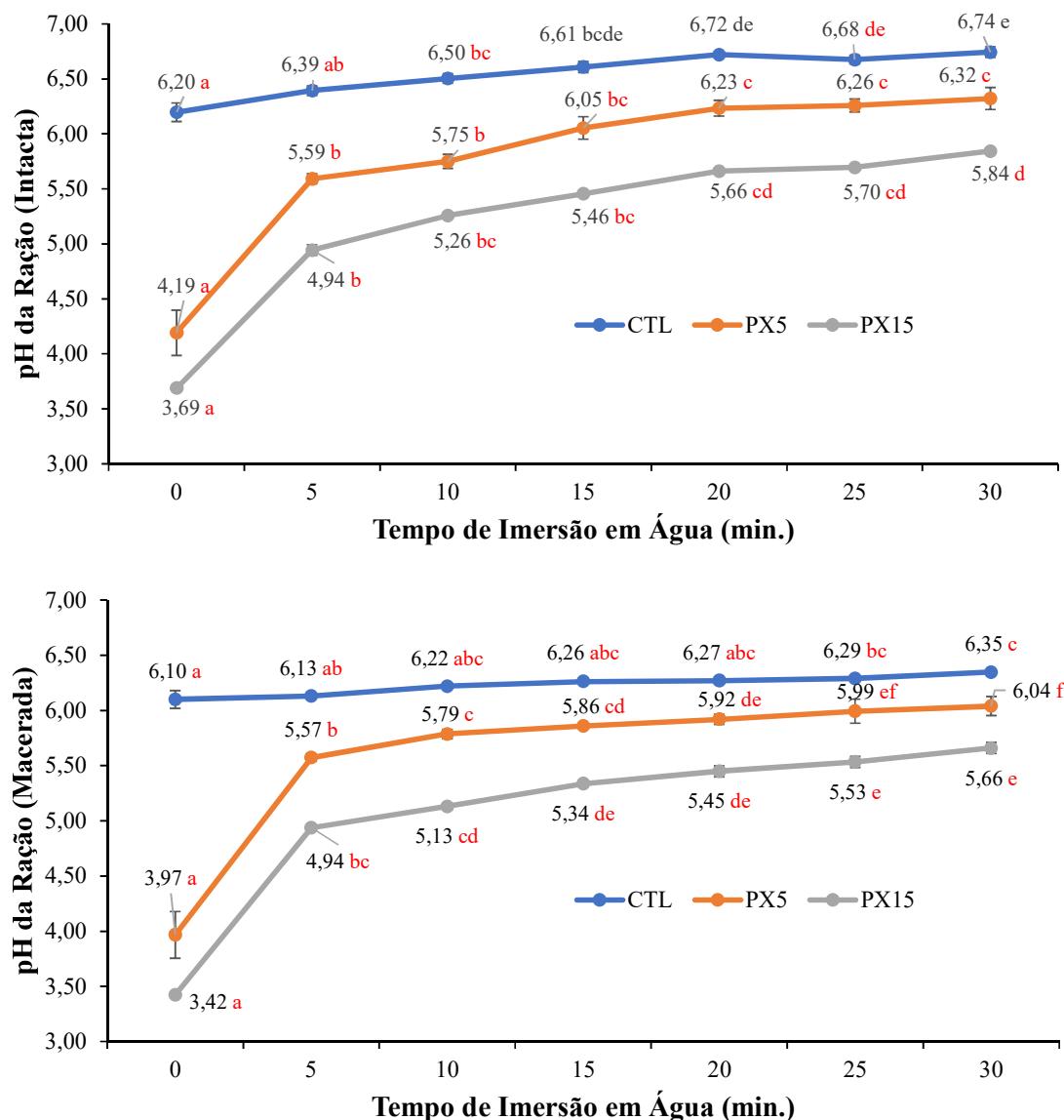
À medida que a concentração do acidificante comercial aumentava, os valores de pH diminuíram de forma correspondente. Inicialmente, a ração comercial sem acidificante (CLT) apresentou um pH de $6,30 \pm 0,49$. A adição de 5 g/kg do acidificante reduziu o pH para uma média de $4,05 \pm 0,19$, enquanto a inclusão de 15 g/kg diminuiu ainda mais o pH, alcançando a média de $3,58 \pm 0,16$. Esses resultados demonstraram uma redução clara e consistente no pH da ração com a incorporação do acidificante comercial.

Após verificar a capacidade de acidificação, investigou-se a duração desse efeito e sua relação com a lixiviação no meio aquoso. Ao analisar as medições de pH dos *pellets* da ração intactos e macerados durante a imersão em água por 30 minutos, observou-se, um aumento significativo no pH ao longo do tempo, sendo este aumento abruptamente maior nas rações suplementadas com o acidificante, embora também presente, em menor grau, na ração CTL. As rações tratadas com o acidificante apresentaram valores de pH consistentemente mais baixos em comparação ao controle (CTL), com um aumento acentuado no pH logo após a imersão, principalmente nos primeiros 5 minutos, tanto nos *pellets* intactos quanto nos macerados ($p < 0,05$).

Após o aumento inicial, observou-se um incremento gradual no pH entre 5 e 15 minutos de imersão, porém as variações nesse intervalo não foram estatisticamente significativas ($p >$

0,05). Nos *pellets* macerados, os aumentos de pH ocorreram de forma mais rápidam em intervalos de 10 minutos, enquanto nos *pellets* intactos os picos foram observados em torno de 15 minutos. A ração PX5 apresentou seu pico de pH em 15 minutos nos *pellets* intactos e aos 20 minutos nos *pellets* macerados. Já a ração PX15 atingiu o pico de pH aos 20 minutos em ambos os tipos de *pellets*. Após esses picos, houve novos aumentos nos valores de pH, porém sem significância estatística ($p > 0,05$). A Figura 9 elucida o exposto:

Figura 9 - Comparação das médias (\pm erro padrão) de pH da ração inteira e macerada ao longo de um intervalo de 30 minutos de imersão em água.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

4.3 Desempenho zootécnico dos camarões

Os tratamentos dietéticos apresentaram efeitos distintos sobre o desempenho dos camarões em diferentes métricas-chave, evidenciando a influência da suplementação com acidificante na sobrevivência, no crescimento e na eficiência alimentar dos camarões, entre outros parâmetros avaliados (Quadro 1).

Tabela 1 - Desempenho zootécnico (média ± desvio padrão) dos camarões alimentados com ração comercial com e sem (CTL) incorporação de ácidos orgânicos. Cada valor representa a média dos cinco tanques referentes a cada tratamento. O peso corporal inicial dos camarões foi de $1,99 \pm 0,31$ g.

Tratamento	Sob. final (%)	Produtivida de (g/m ²)	Crescimento (g/semana)	CAR (g/indivíduo)	FCA	TCE/d
CTL	$81,0 \pm 4,5$	523 ± 154	$0,80 \pm 0,20$	$27,9 \pm 2,5$	$3,55 \pm 0,80$	2,10%
PX5	$92,0 \pm 4,1$	629 ± 127	$0,82 \pm 0,14$	$29,1 \pm 1,4$	$3,04 \pm 0,43$	2,11%
PX15	$82,5 \pm 6,8$	622 ± 129	$0,93 \pm 0,13$	$29,2 \pm 2,4$	$3,06 \pm 0,38$	2,27%
Média ± Desvio Padrão	-	591 ± 136	$0,85 \pm 0,16$	$28,7 \pm 2,1$	$3,22 \pm 0,58$	2,16%
ANOVA p	0,013	0,421	0,442	0,557	0,31	0,09%

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Entre todos os índices avaliados, a sobrevivência final se destacou pela diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos experimentais ($p < 0,05$). As taxas de sobrevivência foram significativamente maiores no grupo alimentado com 5 g/kg ($92,0 \pm 4,1\%$) em comparação ao controle ($81,0 \pm 4,5\%$) e ao grupo alimentado com 15 g/kg ($82,5 \pm 6,8\%$; $P = 0,013$) (Quadro 1).

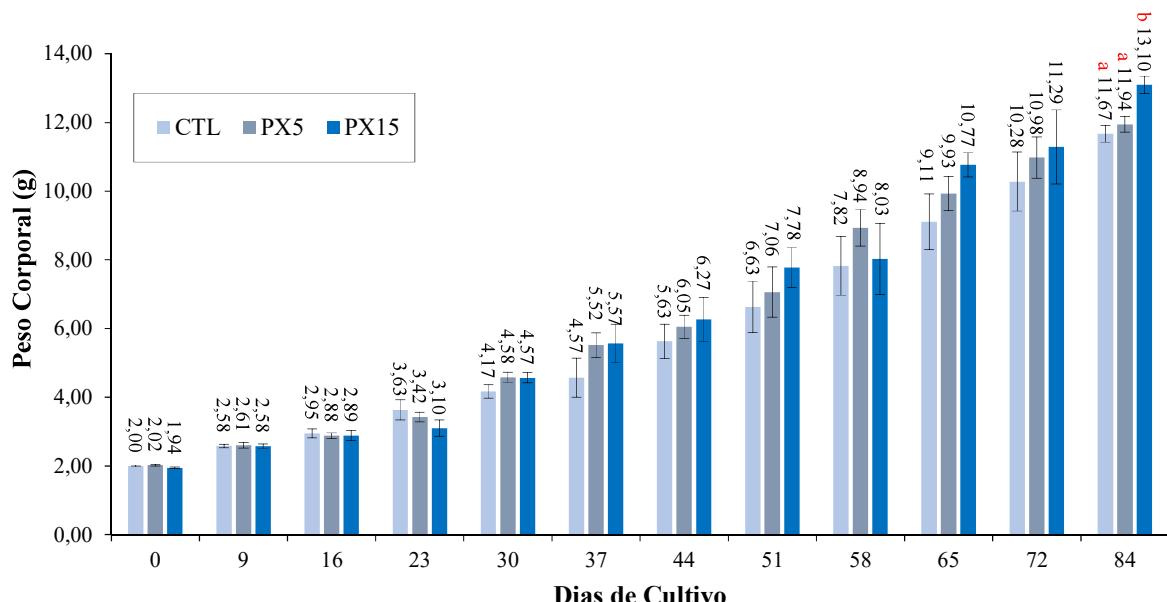
O ganho de produtividade seguiu uma tendência semelhante, sendo numericamente maior nos grupos PX5 (629 ± 127 g/m²) e PX15 (622 ± 129 g/m²) em comparação ao CTL (523 ± 154 g/m²), embora essas diferenças não tenham sido estatisticamente significativas ($p = 0,421$). Paralelamente, o grupo PX15 destacou-se por apresentar a maior taxa de crescimento semanal ($0,93 \pm 0,13$ g/semana), em comparação aos demais grupos, PX5 ($0,82 \pm 0,14$ g/semana) e CTL ($0,80 \pm 0,20$ g/semana). Entretanto, as diferenças no crescimento não foram estatisticamente significativas entre os tratamentos experimentais em um primeiro momento do experimento ($p = 0,442$). Da mesma forma, a taxa de crescimento específico (TCE) foi mais alta para os camarões alimentados com as dietas PX15 ($2,26 \pm 0,16\%/\text{dia}$) e PX5 ($2,10 \pm 0,16\%/\text{dia}$) comparado aqueles alimentados com a dieta CTL ($2,08 \pm 0,24\%/\text{dia}$). Entretanto,

esses valores não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo CTL ($p > 0,05$).

A ingestão alimentar aparente (CAR) foi semelhante entre os tratamentos, apresentando valores ligeiramente maiores para PX15 ($29,2 \pm 2,4$ g/camarão) e PX5 ($29,1 \pm 1,4$ g/camarão) em comparação ao CTL ($27,9 \pm 2,5$ g/camarão), assim como O fator de conversão alimentar (FCA), apresentou, de modo geral, melhor desempenho nos tratamentos com adição de acidificante. Isso fica evidente pelo fato de que ambos os grupos com ração acidificada, PX5 ($3,04 \pm 0,43$) e PX15 ($3,06 \pm 0,38$), sem diferenças significativas ($p = 0,557$). É importante notar que o FCA foi elevado em todos os grupos devido à estratégia de alimentação *ad libitum* (à vontade), adotada para garantir que o desempenho máximo dos animais fosse expresso sem restrições..

A figura 10 destaca as diferentes tendências no peso corporal dos camarões entre os tratamentos dietéticos. Na fase inicial (dias 0–23), os camarões alimentados com PX5 apresentaram um crescimento ligeiramente superior ao do grupo CTL, enquanto o grupo PX15 teve um crescimento mais lento, possivelmente devido ao maior nível de acidificação, que pode ter retardado a assimilação de nutrientes em camarões mais jovens, exigindo um período de adaptação dos animais.

Figura 10 - Peso corporal dos camarões (g, média \pm erro padrão) ao longo do período experimental de cultivo de 84 dias. Cada coluna representa o peso corporal médio de 25 camarões (indivíduos utilizados nas biometrias), exceto nos dias 0 e 84, quando todos os camarões foram pesados individualmente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Na fase intermediária (dias 23–51), o grupo PX15 apresentou uma recuperação significativa, superando tanto o grupo CTL quanto o PX5 até o dia 51, refletindo os possíveis benefícios a longo prazo da maior dose de acidificante. Paralelamente, o grupo PX5 manteve um crescimento constante e equilibrado, preservando uma vantagem clara sobre o CTL.

Na fase final (dias 51–84), os camarões alimentados com PX15 alcançaram o maior peso corporal final ($13,10 \pm 1,59$ g) ($p = 0,0056$), sugerindo maior eficácia no crescimento em estágios mais avançados da vida do camarão. O grupo PX5 ($11,94 \pm 1,63$ g) e o CTL ($11,67 \pm 2,35$ g) apresentaram crescimento estáveis sem diferenças significativas.

4.4 pH do Trato Digestivo do Camarão após a Alimentação

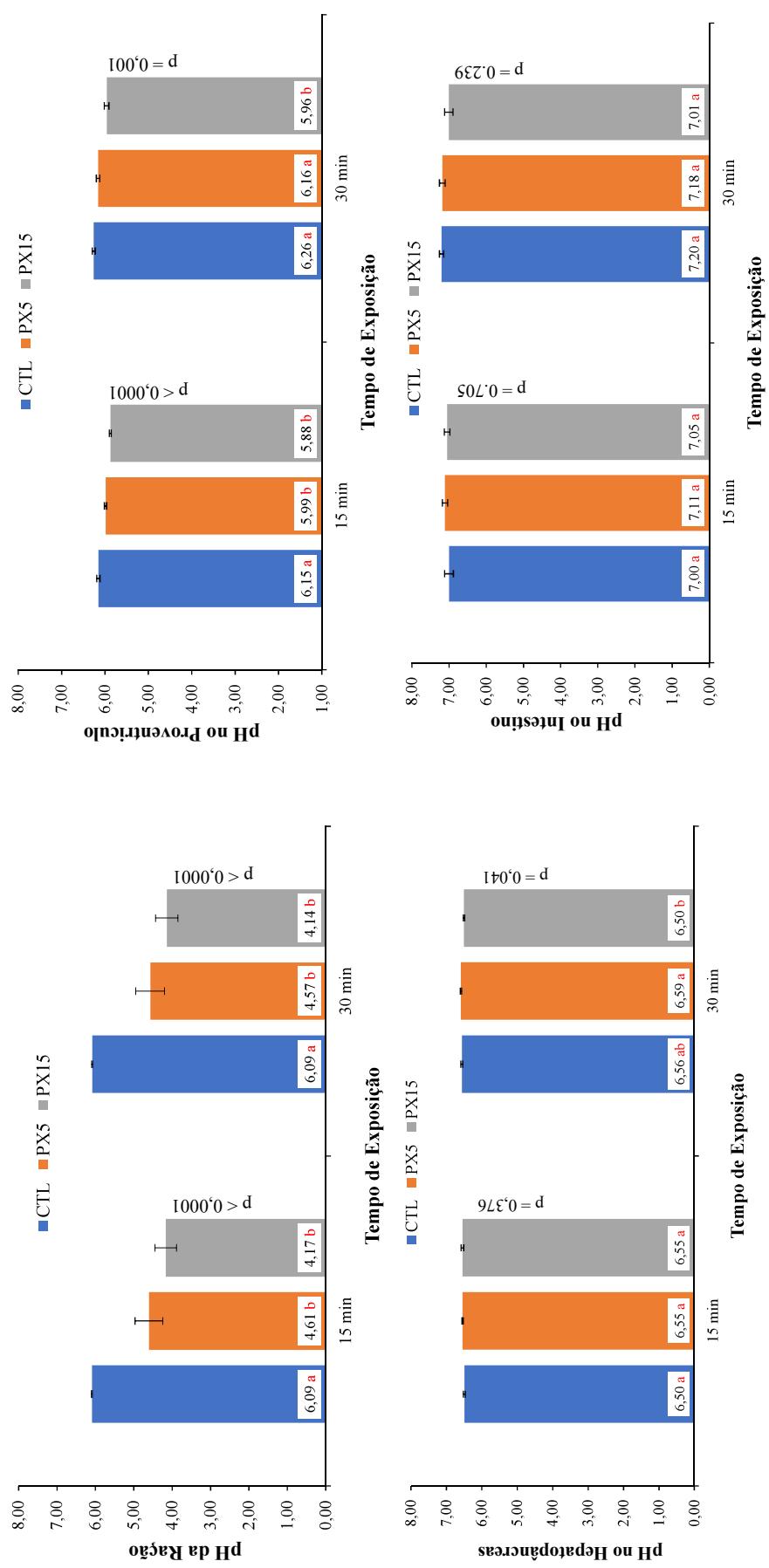
Os conteúdos dos órgãos analisados no trato digestivo do camarão incluíram material proveniente do proventrículo, hepatopâncreas e intestino médio e posterior, os quais representam pontos-chave na digestão, absorção e modulação do pH na fisiologia do camarão.

Os dados demonstraram que a ração controle apresentou pH estatisticamente mais elevado em comparação às rações suplementadas com o acidificante avaliado, independentemente do nível de suplementação, principalmente no proventrículo e hepatopâncreas dos animais ($p < 0,05$).

O pH do estômago do camarão foi o mais impactado pelas rações acidificadas. Camarões coletados 15 minutos após a alimentação apresentaram um pH estomacal estatisticamente menor quando alimentados com as rações acidificadas, em comparação à ração CTL. Especificamente, o pH caiu de $6,15 \pm 0,09$ nos camarões alimentados com a ração CTL para $5,99 \pm 0,06$ e $5,88 \pm 0,06$ nos camarões alimentados com PX5 e PX15, respectivamente ($p < 0,05$). Essa redução precoce do pH no estômago sugere uma ação rápida do acidificante no desenvolvimento de um ambiente ácido, o que pode melhorar a eficiência digestiva, considerando a totalidade dos testes realizados.

Após 30 minutos da alimentação, apenas os camarões alimentados com PX15 mantiveram um pH estomacal mais baixo ($5,96 \pm 0,13$) em comparação àqueles alimentados com PX5 ($6,16 \pm 0,10$) e com a ração controle ($6,26 \pm 0,08$). Isso indica que níveis mais elevados de suplementação (15 g/kg) podem ser mais eficazes na manutenção do ambiente ácido no estômago do camarão ao longo do tempo. No entanto, esse efeito acidificante se restringiu ao estômago desses animais (Figura 11).

Figura 11- pH da ração e do trato digestivo (conteúdo do proventrículo, hepatopâncreas e intestino médio e posterior) dos camarões após 15 e 30 minutos da alimentação com as rações controle e suplementadas com 0,5 e 15 g/kg de ácido orgânico.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Ainda com relação à figura 11, o hepatopâncreas, não foram observadas diferenças estatísticas no pH entre os tratamentos após 15 minutos de alimentação (pH = 6,53 ± 0,07). Entretanto, aos 30 minutos, os camarões alimentados com a dieta PX15 (6,50 ± 0,02) apresentaram um pH hepatopancreático ligeiramente inferior em comparação àqueles alimentados com a ração controle (6,56 ± 0,03) ou PX5 (6,59 ± 0,02; p < 0,05). O efeito acidificante retardado no hepatopâncreas pode estar relacionado à fisiologia do órgão em questão e seus mecanismos próprios de digestão e tamponamento.

No intestino médio, os valores de pH nos tratamentos atingiram médias de 7,05 ± 0,21 e 7,13 ± 0,22, respectivamente, aos 15 e 30 minutos após a ingestão da ração. As rações controle e com 5 e 15 g/kg de ácido alcançaram um pH médio de 6,61 ± 0,39, 6,57 ± 0,46 e 6,51 ± 0,48, respectivamente ao final da análise, demonstrando em maior ou menor grau a mesma tendência dose dependente de acidificação.

4.5 Análises Histológicas e sanidade dos camarões

A análise histológica abrangeu desde o exame presuntivo realizado na data da despesca, que analisou o estado geral dos animais e presença de alterações anatômicas macroscópicas, até os achados histológicos obtidos pela observação das lâminas. Ao todo, foram analisados 45 indivíduos, e os principais achados foram catalogados por tratamento para verificar sua frequência de ocorrência (Tabela 2) e as informações dos achados relativos a cada indivíduo se encontram no apêndice B.

Tabela 2 - Alterações gastrointestinais e principais achados detectados através da histologia dos camarões alimentados com rações controle e com ácidos orgânicos.

Tratamento	CTL	5 g/kg	15g/kg
Estômago	-	-	-
Alterações gastrointestinais			
Deformidade de túbulos	5	1	-
Desuniformidade de células	4	1	-
Principais achados			
Intestino	3	-	1
Melanose	4	2	3
Presença de <i>Vibrio</i> ssp.	15	15	15

Infiltrações hemocíticas	7	2	5
Corpo de Inclusão	1	-	-

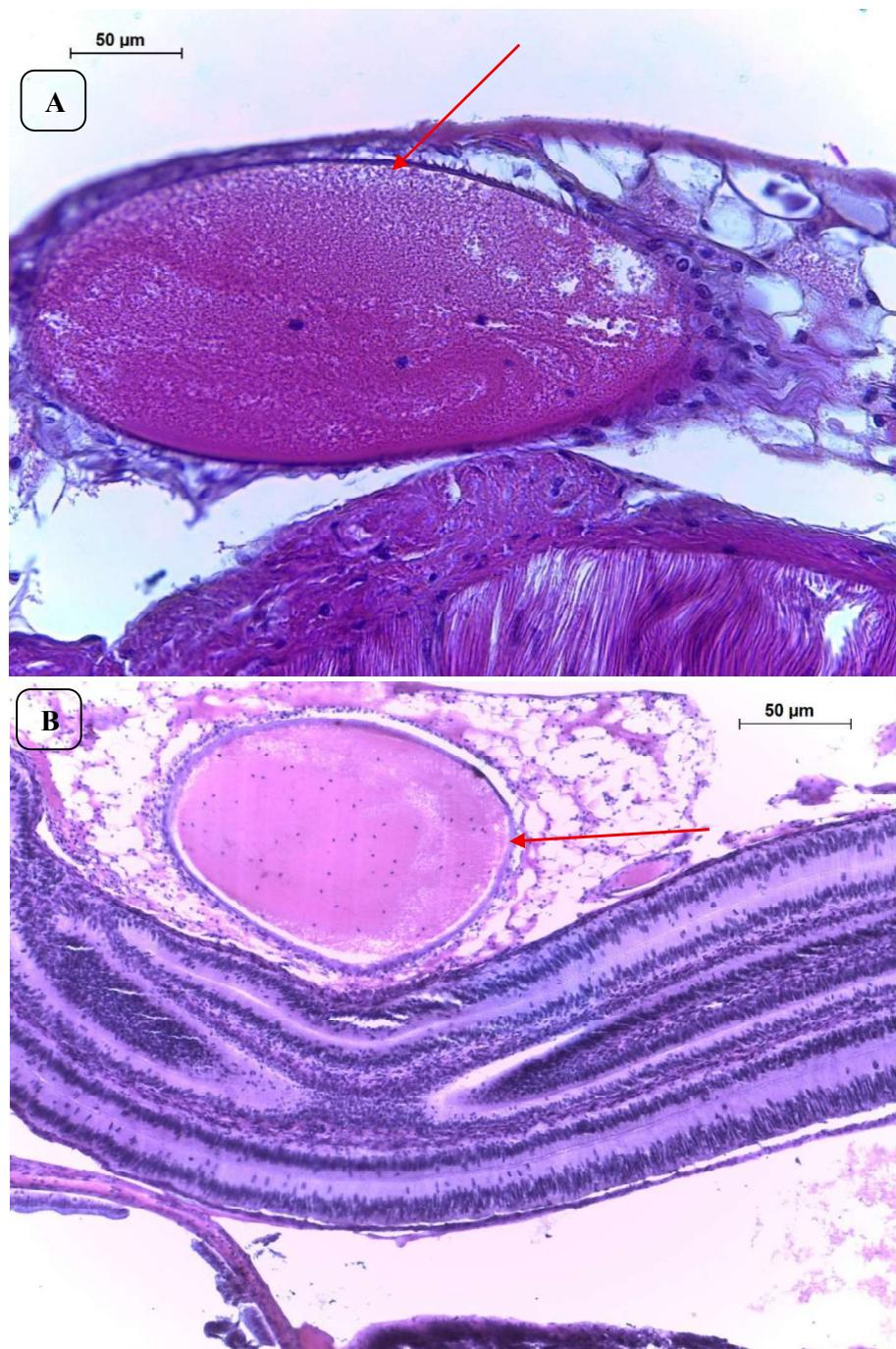
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Inicialmente, cabe inferir que o estado geral de todos os animais analisados no exame presuntivo foi considerado satisfatório, com características desejáveis como olhos brilhantes, integridade da carapaça, presença de todos os pleópodes, pereópodes; integridade das antenas na grande maioria dos animais, ausência de odor ou alterações na cor, abdômen arredondado e firme, dentre outros aspectos gerais anatômicos puderam ser evidenciados nos animais de todos os tratamentos, sendo as melanoses os únicos achados relevantes neste exame.

Comparativamente, os camarões do controle apresentaram maior número de melanizações macro durante o exame presuntivo, sendo tais achados encontrados em pelo menos quatro animais desse grupo. Em contraponto, os camarões alimentados com a suplementação dietética de 5 e 15 g/kg de ácido orgânico apresentaram, respectivamente, apenas dois e três indivíduos com essas lesões melânicas, comuns em casos de infestação por *Vibrio* spp., localizadas em diferentes regiões do corpo, como cauda, abdômen e maxilípedes, que em alguns animais geraram perda parcial do membro (Tabela 2).

No exame das lâminas histológicas, cabe inferir o que foi comum a todos os indivíduos analisados a presença de achados característicos de infestação por bactérias do gênero *Vibrio* spp. (Tabela 2).

Figura 12 – Fotomicrografia do intestino de *P. vannamei*. a) Corte transversal evidenciando sinais morfológicos de vibriose no tecido conjuntivo adjacente ao intestino anterior (CTL); b) Corte longitudinal de intestino anterior de *P. vannamei* evidenciando sinais morfológicos de vibriose (CTL).



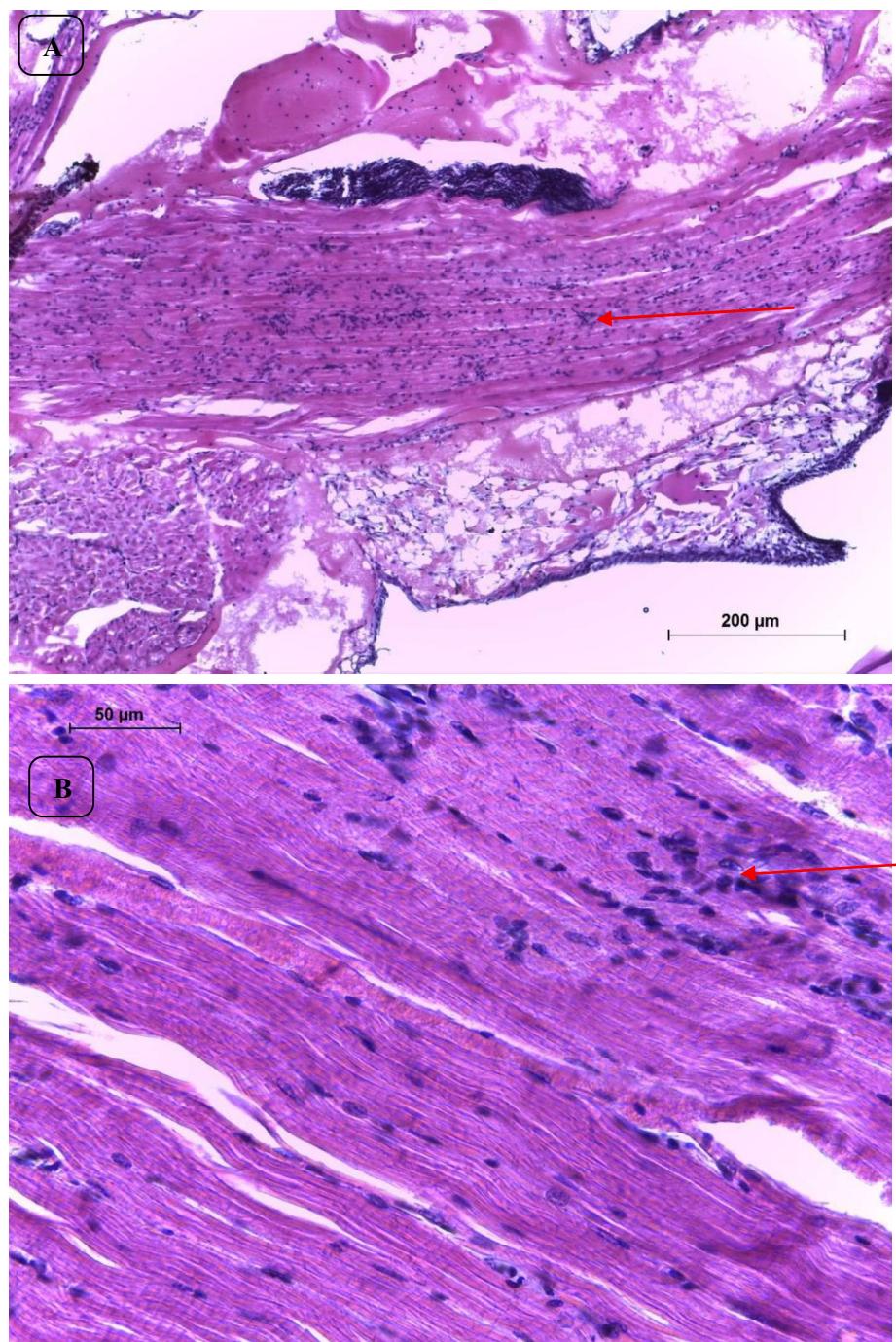
Fonte: Arquivo do autor (2024).

Essas lesões são claramente visualizadas em setas e podem ser interpretadas como poços de material resultante do metabolismo das células bacterianas, células degradadas e presença de hemócitos circundantes (Figura 12):

Outro achado comum entre os três tratamentos, em menor ou maior grau foram as infiltrações hemocíticas, encontradas em diferentes tecidos dos animais (Figura 13). Tais achados, em predominância, juntamente com exame quantitativo qPCR/Taqman e o exame

presuntivo, além da raríssima presença de corpos de inclusão, encontrados em apenas um animal do grupo controle (Figura 14) nos tecidos dos camarões, reforçam que os animais sofriam com patógenos de origem bacteriana, excluindo doenças virais como a mancha branca (WSSV) e a Mionecrose Infecciosa (IMNV), conforme exame realizado previamente pelo CEDECAM-LABOMAR (Apêndice A).

Figura 13 – Fotomicrografia do tecido muscular de *P. vannamei*. a) Corte transversal evidenciando infiltrações hemocíticas no tecido conjuntivo e muscular adjacentes ao intestino anterior (CTL); b) Corte longitudinal de tecido muscular de *P. vannamei* com enfoque para hemócitos regionais, indicando processo inflamatório (CTL).

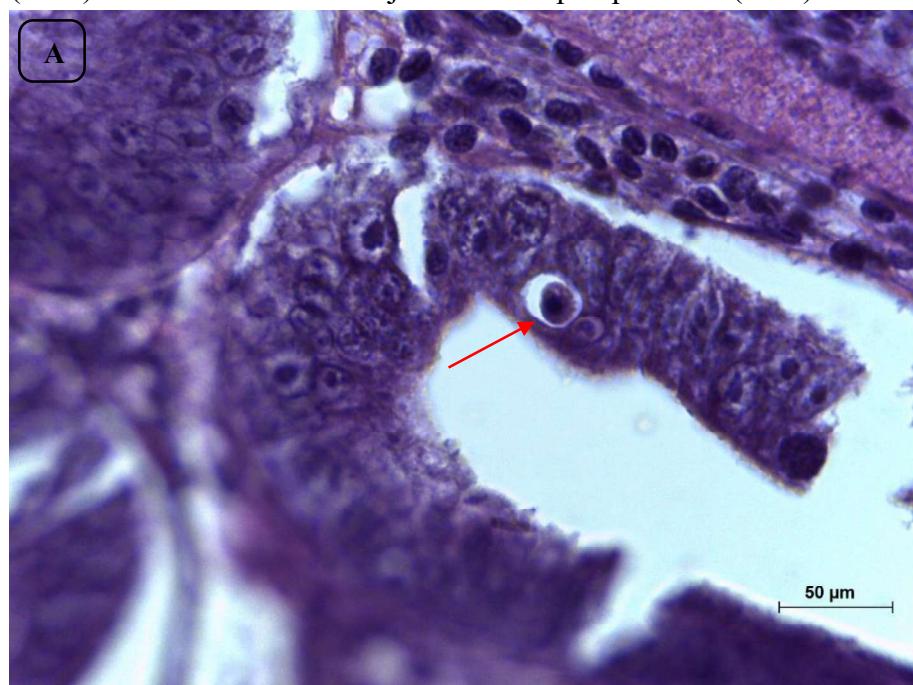


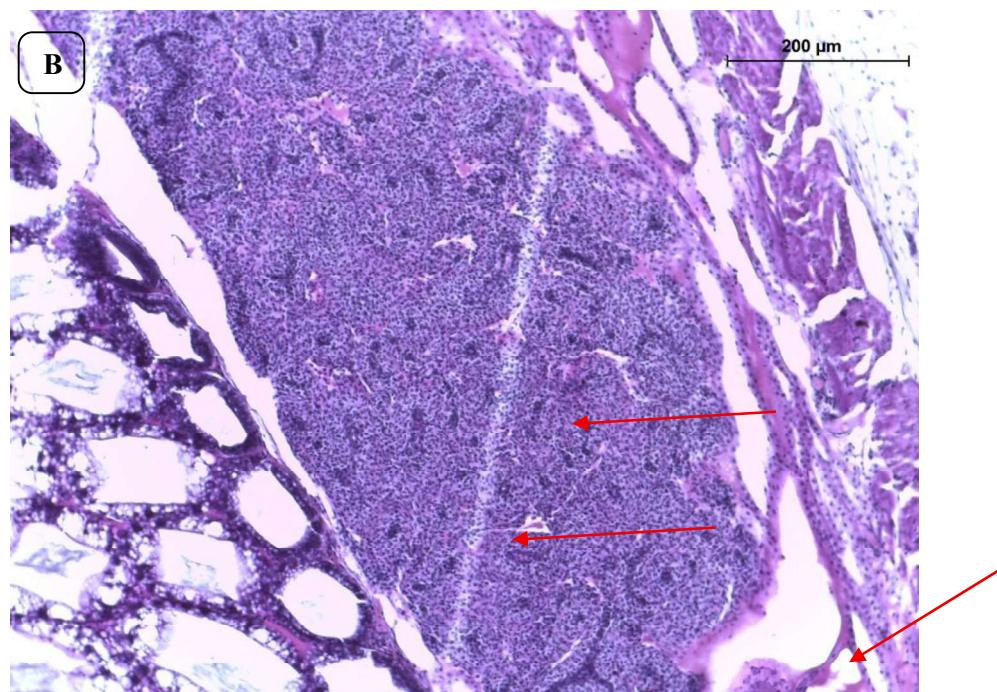
Fonte: Arquivo do autor (2024).

Partindo para uma análise específica dos tratamentos, nos tanques do grupo controle, foi observada uma maior incidência de infiltrações hemocíticas, estando estes presentes em seis dos quinze animais do grupo, sugerindo processos inflamatórios e colonização dos tecidos por patógenos bacterianos (Figura 14).

Foi observado, ainda, um achado de corpúsculo de inclusão neste grupo, indicando maior gravidade das lesões, infecções mais severas ou acometimento por alguma partícula viral não identificada. Outro achado encontrado em apenas no tratamento controle (no mesmo indivíduo) foi a presença de esferóides ectópicos do órgão linfóide (EOL) (Figura 14). Os EOL são estruturas resultantes do processo fagocítico dos hemócitos e, quando visualizados em demasia próximos ao órgão linfoide, podem indicar processos fisiológicos para rejeitar patógenos de origem viral ou bacteriana, relacionados à severa infiltração hemocítica na região do tecido linfoide do animal. Tais achados indicam claramente maior tendência do controle negativo estar em resposta inflamatória.

Figura 14 - Fotomicrografia dos tecidos hepatopancreático e linfóide de *P. vannamei*. a) Corte transversal evidenciando corpo de inclusão na região do hepatopâncreas (CTL); b) Corte transversal do tecido linfóide com presença significativa de esferóides ectópicos do órgão linfóide (EOL) no tecido conectivo adjacente ao hepatopâncreas (CTL).



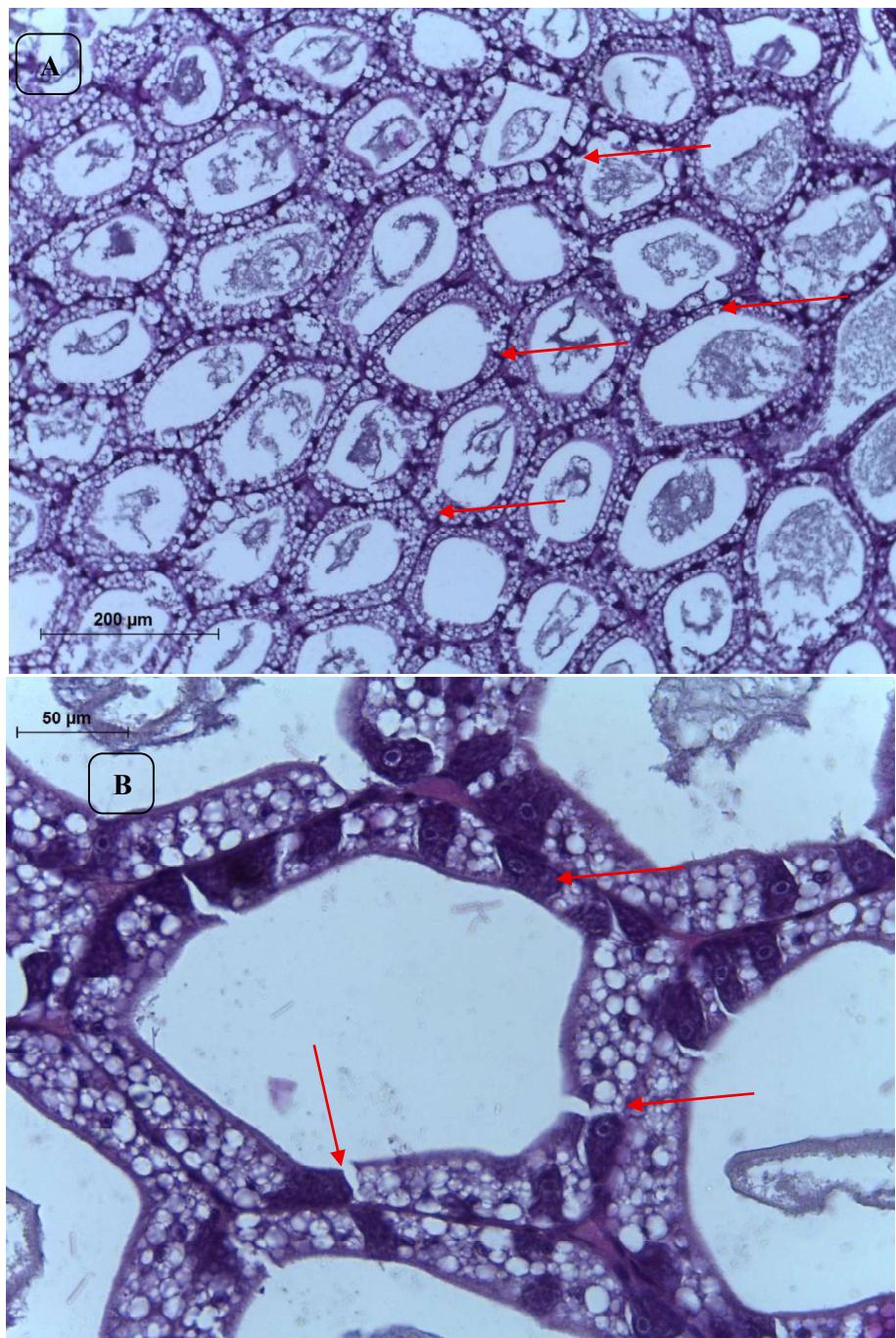


Fonte: Arquivo do autor (2024).

Partindo para análise das estruturas do trato gastrointestinal, no exame histológico, de modo geral, não foram observadas alterações significativas na região do proventrículo no controle, assim como nos demais. Todos os animais apresentaram higidez e preservação das estruturas do órgão, com destaque para o epitélio colunar que reveste sua parede.

Contudo, cinco animais apresentaram alterações compatíveis com deformidades nos túbulos hepatopancreáticos. Em três desses animais, observaram-se desuniformidades celulares, com desequilíbrio na proporção das células E, B, F e R, evidenciando, ao correlacionar com o achado anterior, uma predominância patogênica de células B em detrimento das células R e F. Além disso, foram verificadas alterações morfológicas e funcionais nos túbulos (Figura 15).

Figura 15 - Fotomicrografia do tecido hepatopancreático de *P. vannamei*. a) Corte transversal evidenciando deformidade dos túbulos com predominância patogênica de células B. As setas indicam fissuras e perda da forma usual dos túbulos (CTL); b) Corte transversal evidenciando deformidade dos túbulos com presença de necroses e atrofias (CTL).



Fonte: Arquivo do autor (2024).

No item “b” da figura 15 é possível visualizar, conforme as setas, alterações na espessura dos túbulos, demonstrando claramente uma atrofia dos mesmos, um processo claramente resultante de processo inflamatório crônico por infestação por patógenos ou estresse oxidativo.

Ainda no controle em maioria notável, percebeu-se a proliferação patogênica de células B, achado relacionado à alta demanda por renovação celular decorrente também de infecção ou processo inflamatório, o que pode ser visto, conforme a seta, como um excesso de

vacúolos basofílicos, ausência de núcleo e enzimas digestivas, evidenciando uma hiperplasia dos túbulos, repletos de células primogênitas com baixa capacidade digestiva (Figura 16).

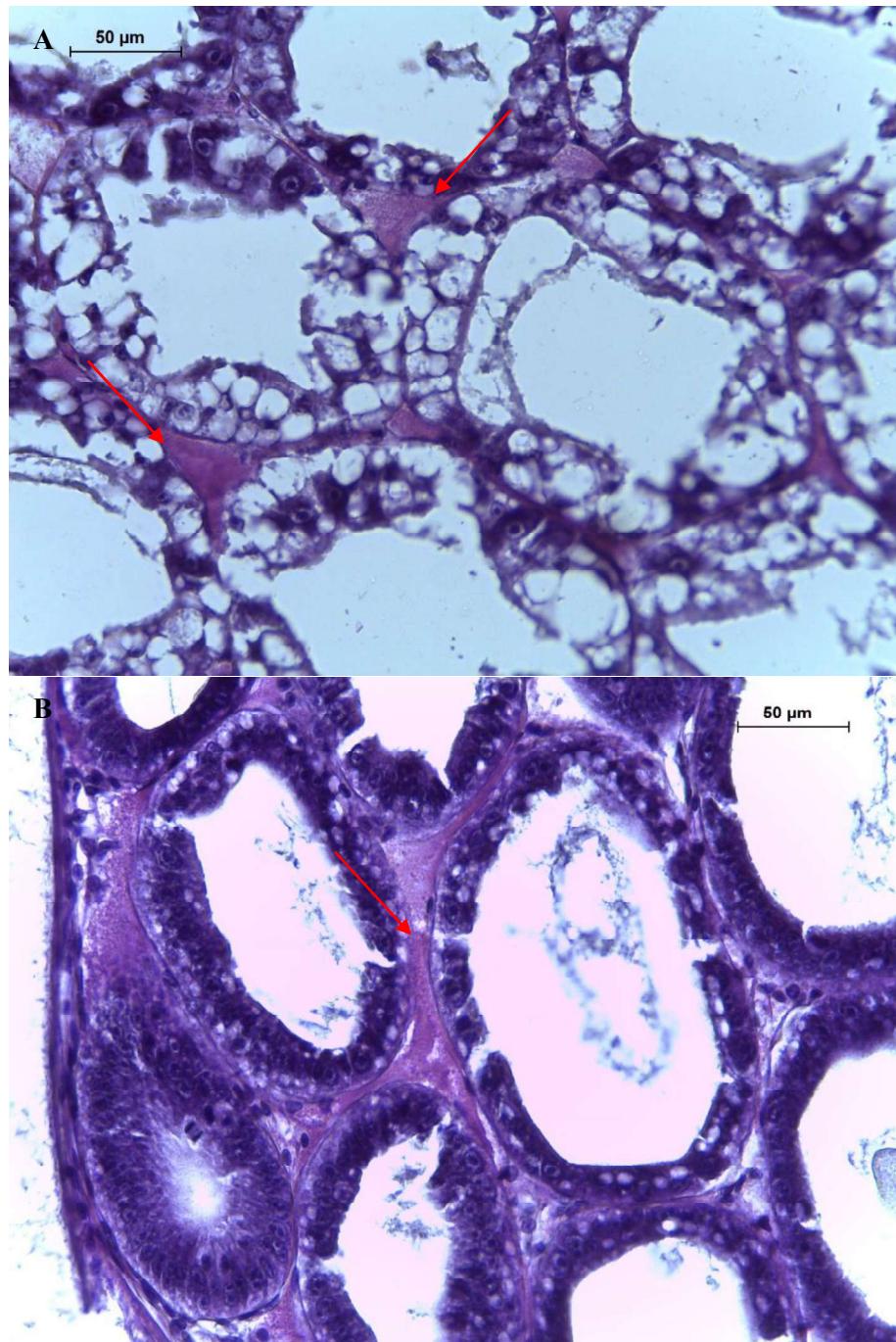
Figura 16 – Fotomicrografia do tecido hepatopancreático de *P. vannamei* em corte transversal evidenciando deformidade dos túbulos com predominância patogênica de células B, fissuras e necroses (CTL).



Fonte: Arquivo do autor (2024).

A presença de achados morfológicos condizentes com *Vibrio* spp. no tecido conjuntivo adjacente aos túbulos do hepatopâncreas também foi um achado marcante, como vistos nas setas a seguir, confirmando possível relação entre as alterações, incluindo a proliferação de células menos diferenciadas (Item a), atrofias (Item b) e perda da forma teleada dos túbulos, com a presença de um patógeno (Figura 17):

Figura 17 - Fotomicrografia do tecido hepatopancreático de *P. vannamei*, evidenciando alterações patogênicas. a) Corte transversal evidenciando deformidade de túbulos com predominância patogênica de células B alogandas e ampla presença de Víbrio no tecido conjuntivo ao redor dos túbulos (CTL). b) Corte transversal evidenciando deformidade de túbulos com presença de necroses e atrofias (CTL).



Fonte: Arquivo do autor (2024).

No intestino de três animais do grupo controle, observou-se ainda leve descamação e redução do epitélio colunar e vilosidades, além de infiltrações hemocíticas nos tecidos, reiterando o caráter patogênico dos achados.

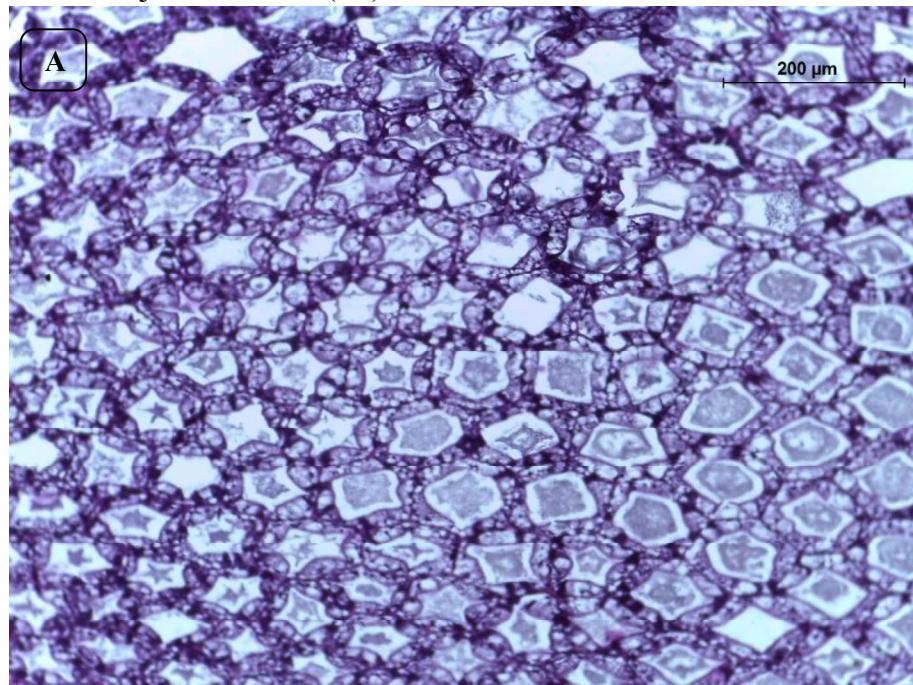
Em sequência, nos animais alimentados com 5 g/kg de ração, no exame presuntivo, apenas dois animais apresentaram lesões melânicas macro. Ao passo que, no exame histológico, houve uma tendência de redução dos achados relacionados às infiltrações hemocíticas, tendo apenas dois animais apresentado infiltrações significativas, sugerindo menor resposta

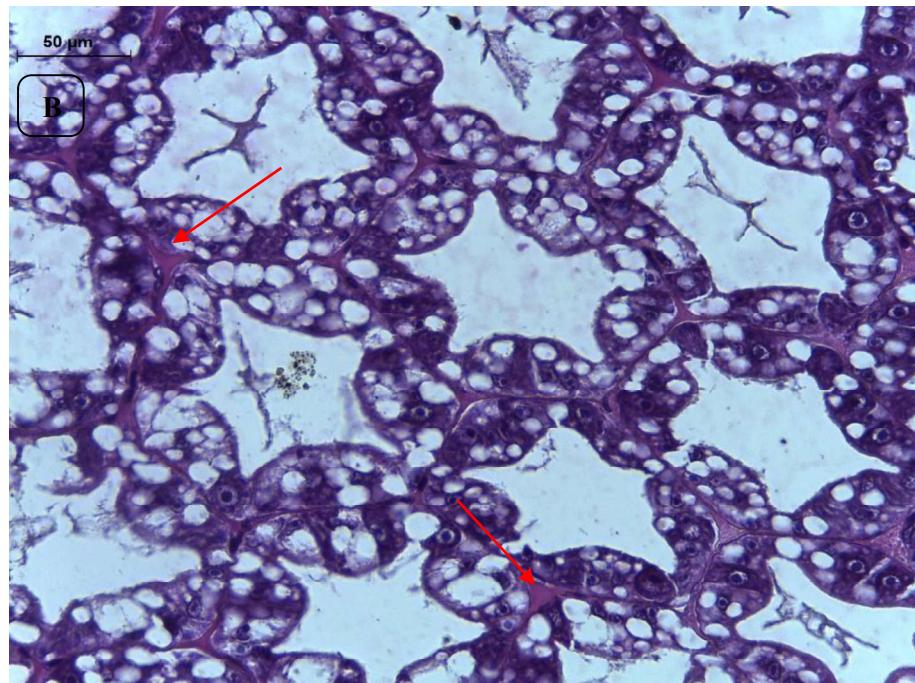
inflamatória, sob o ponto de vista qualitativo. Uma vez que, para obter dados com maior significância estatística, seria necessário um estudo de histologia com mais indivíduos, infere-se a limitação no presente universo amostral.

Não foram observadas alterações na estrutura do proventrículo, assim como em todos os animais analisados. O epitélio colunar e as vilosidades intestinais, por sua vez, não apresentaram alterações, contudo um animal do CTL apresentou relevante deformidade nos túbulos hepatopancreáticos.

Cabe ainda reiterar que, apesar da presença de achados relacionados ao Víbrio (conforme evidenciado em setas no item b da imagem que segue), a forma anatômica, funcionalidade e melhor distribuição dos hepatócitos, sob o ponto de vista qualitativo foram evidentes a partir da ampla distribuição de diferentes linhagens de hepatócitos, incluindo células R e F com conteúdo digestivo funcional (Figura 18).

Figura 18 - Fotomicrografia do tecido hepatopancreático de *P. vannamei*, evidenciado estruturas anatômicas. a) Corte transversal ilustrando panorama geral de hepatopâncreas com distribuição uniforme de hepatócitos (T2). (b) Corte transversal com enfoque nos túbulos morfológicamente saudáveis e funcionais, sem atrofia e necrose, em formato teleado, apesar da presença de *Vibrio* spp. no tecido conjuntivo anexo (T2).





Fonte: Arquivo do autor (2024).

O grupo alimentado com 15 g/kg de ração acidificada, enfim, assim como os camarões expostos a 5 g/kg, apresentaram melhor tendência no tocante à resposta inflamatória e achados característicos de alterações no sistema gastrointestinal, quando comparados ao grupo controle.

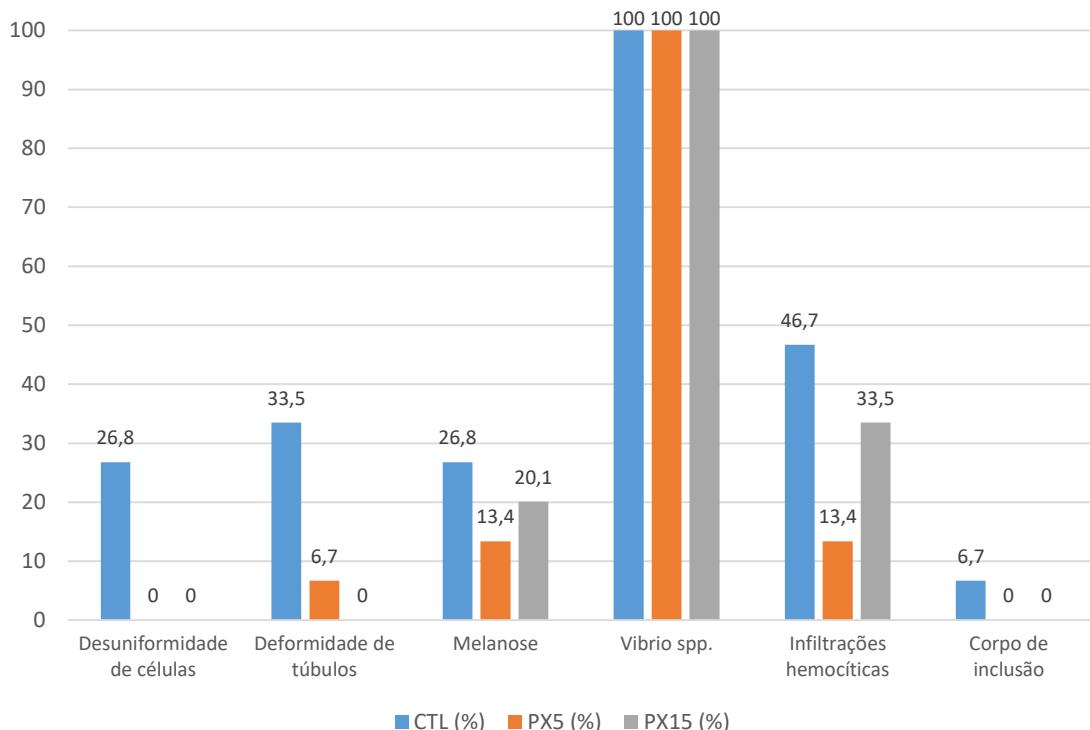
Com relação aos achados macro, este grupo apresentou melanizações em três indivíduos, ao passo que, no exame histológico, cinco animais apresentaram infiltrações hemocíticas, sem mais achados relevantes acerca da resposta inflamatória.

Nestes indivíduos, no tocante ao trato gastrointestinal, também não foram verificadas lesões ou alterações no epitélio colunar do proventrículo ou do hepatopâncreas, contudo em um dos animais foi verificada alteração no epitélio colunar do intestino, no entanto, tal achado isolado não tem relevância estatística.

Reitera-se que, durante o exame das lâminas histológicas, este tratamento foi o único onde não foram detectadas deformidades nos túbulos hepatopancreáticos, assim como as células que compõem o sistema hepatopancreático se apresentaram uniformes e bem distribuídas, indicando boa função digestória.

A fim de apresentar um panorama geral dos achados cabe apresentar ainda gráfico de frequência de ocorrência de achados (Figura 18):

Figura 19 – Frequência de ocorrência de achados histológicos entre os grupos controle, PX5 e PX15 (%).



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A simples análise, verifica-se a citada tendência de que o grupo controle negativo apresentou maior incidência de respostas a processos inflamatórios ou infecciosos, tornando-se mais suscetível à infecção por *Vibrio* spp. Em contrapartida, os grupos PX5 e PX15 demonstraram menor número de infiltrações hemocíticas e outros sinais inflamatórios relacionados à atividade bacteriana, sugerindo um efeito benéfico dos acidificantes.

Os achados relacionados ao hepatopâncreas tiveram presença massiva nos animais do grupo controle. As deformidades dos túbulos do hepatopâncreas e as irregularidades nos hepatócitos foram mais frequentes apenas no grupo controle, com achado isolado nos camarões alimentados com 5 g/kg. Isso indica um possível efeito protetor dos tratamentos aplicados (PX5 e PX15) na integridade estrutural do epitélio e das células hepatopancreáticas.

5 DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros de desempenho

Os resultados indicam que a acidificação da ração tem efeito positivo sobre o desempenho zootécnico dos camarões. No estudo, os animais alimentados com 5 g/kg de ração acidificada apresentaram maior sobrevivência em comparação ao grupo controle. Já aqueles que alimentados com uma ração suplmentadas com 15 g/kg, embora com taxa de sobrevivência inferior ao grupo de 5 g/kg, também superaram o controle e apresentaram os melhores índices de sobrevivência final entre todos os tratamentos, além de resultados positivos quanto ao método de acidificação e fatores relacionados à sanidade. Esses resultados seguem a tendência de diversos outros estudos que encontraram resultados semelhantes, como apresentado a seguir.

A maior taxa de sobrevivência foi observada no grupo PX5 (5 g/kg), com $92,0 \pm 4,1\%$, significativamente superior aos grupos controle ($81,0 \pm 4,5\%$) e PX15 ($82,5 \pm 6,8\%$). Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores como Yowaphui, Rairat e Chuchird (2016), que observaram aumento na sobrevivência do *P. vannamei* alimentados com 3 g/kg de ácido fórmico (Amasil® NA), em desafio com *V. parahaemolyticus*. Adams e Boopathy (2013), por sua vez, observaram aumento da sobrevivência de 55% para 85% em camarões *P. vannamei* tratados com 10 g/kg de ácido fórmico. Da mesma forma, Nguyen *et al.* (2023) reportaram que o uso de parafórmico (4 g/kg) elevou a sobrevivência do *P. vannamei* infectados com *V. parahaemolyticus* para até 84,4% no quinto dia de desafio, comparado a 48,9% no grupo controle. No presente estudo, ainda que o desafio bacteriano não tenha sido realizado, é possível, comparativamente, relacionar os efeitos positivos na sobrevivência ao ácido fórmico em doses moderadas, como prelecionado por Defoirdt *et al.* (2006), que indicam a capacidade da forma não dissociada do ácido em acidificar o citoplasma bacteriano, garantindo assim condições desfavoráveis para o patógeno.

O efeito relatado do ácido fórmico, em análise mais ampla, é atribuído, assim como em outros ácidos carboxílicos de cadeia curta, a combinação entre alta solubilidade em água, baixa massa molecular e acidez moderada, que conferem a esses ácidos as propriedades desejáveis para acidificar o alimento sem intoxicar o animal (CHAHARDOLI *et al.*, 2020). Defoirdt *et al.* (2006), em estudo com a *Artemia franciscana*, observaram aumento da sobrevivência de náuplios infectados com o *V. campbellii* de 20% (controle) para até 48% com a adição de 20 mM (aprox. 2,04 g/Kg) de uma solução de ácidos carboxílicos (fórmico, acético, propiônico, butírico e valérico) diretamente na água de cultivo. Esse efeito, conforme já

relatado, não é exclusivo nos peneídeos. Em organismos aquáticos mais complexos, como os peixes, os efeitos positivos na sobrevivência são bem relatados. Hassaan *et al.* (2014) também verificaram aumento significativo da sobrevivência de tilápias (*Oreochromis niloticus*) com o uso de propionato e lactato de cálcio, a partir de sais incorporados na formulação de rações extrusadas, em doses entre 10 e 20 g/kg. Tal efeito, conforme o trabalho, foi relacionado à capacidade desses compostos de modular a microbiota. Kumar *et al.* (2017), por sua vez, testaram uma mistura de ácido fórmico e propionato de cálcio, adicionados à dieta basal de peixes *Cirrhinus mrigala* (juvenis de 2,87–3,26 g), onde a dose de 15 g/kg aumentou a sobrevivência significativamente quando desafiados com *Aeromonas hydrophila*, com 75% de sobreviventes, quando comparados ao tratamento controle com 20%. Ao passo que esta mesma dose propiciou aumento de bactérias benéficas no intestino dos respectivos peixes, corroborando com o efeito positivo da acidificação também em peixes.

Os camarões alimentados com 15 g/kg de ácido na ração, em paralelo, apresentaram um peso final significativamente superior, tendo aumentado sua biomassa principalmente no último ciclo do estudo quando comparados ao controle. Essa tendência é compatível com diversos estudos envolvendo ácidos orgânicos. Romano *et al.* (2015), em experimento análogo, constataram um aumento significativo no peso corporal final e taxa de crescimento específico (TCE) em pós-larvas de camarões com 36 dias ($0,123 \pm 0,010$) a juvenis alimentados com ração microencapsulada contendo diferentes concentrações de uma solução com ácidos fórmico, lático, málico e cítrico. No caso, os animais foram alimentados por 50 dias, e o tratamento que resultou em melhor crescimento final continha 20 g/kg do acidificante na ração, uma concentração superior ao presente estudo, chegando a camarões com peso final de $1,24 \pm 0,17$ g, enquanto no tratamento controle os animais alcançaram apenas $0,69 \pm 0,13$ g.

É importante destacar que, embora o tratamento PX15 tenha apresentado vantagens numéricas em parâmetros zootécnicos, como crescimento final em comparação a grupo CTL, não houve melhora na sobrevivência dos camarões. Isso resultou em um número final de camarões inferior ao observado no grupo PX5, impactando negativamente a biomassa final. Esses resultados sugerem que, apesar desse nível de acidificação manter efeitos positivos sobre a TCE, FCA e crescimento, neste estudo a inclusão de 15 g/kg não obteve a mesma performance de sobrevivência que a ração com adição de 5 g/kg. Essa redução pode estar associada ainda à possível interação com patógenos, vez que, como resta-se demonstrado nos resultados há clara tendência de sanidade superior nos animais alimentados com 15 g/kg de acidificante.

Embora outros dados zootécnicos, como o crescimento, conversão alimentar e ganho de peso semanal, não tenham sido estatisticamente significativos neste estudo, observou-se

tendência de melhor desempenho em ambos os grupos alimentados com ração acidificada em todos o período do experimento, quando comparados ao grupo controle. Isso sugere que, eventualmente, em um estudo com maior universo amostral, poderiam ser expressos ainda mais parâmetros zootécnicos estatisticamente relevantes.

Ficaram amplamente verificados os efeitos zootécnicos do ácido fórmico e de outros ácidos de cadeia curta durante a pesquisa, ao passo que o ácido lignosulfônico, apesar da ausência de maiores estudos acerca do efeito zootécnico, possui o efeito tecnológico aglutinante bem relatado (FATEHI, 2017; NASCIMENTO; FERRAZ; BIAGI, 2014). A associação de ácidos orgânicos com produtos aglutinantes tem apresentado resultados satisfatórios na melhoria da estabilidade, proteção da ração e no resultado final em pesquisas laboratoriais com animais aquáticos, seguindo a mesma tendência observada neste trabalho (FATEHI, 2017). Valenzuela-Cobos *et al.* (2017) encontraram efeitos positivos na alimentação do *P. vannamei*, associando ração acidificada e o aglutinante “AQUAPEGA ATUN LA”, um produto comercial à base de polímeros orgânicos hidrófobos. Chowdhury *et al.* (2021) demonstraram que dietas contendo ácidos orgânicos microencapsulados com gordura hidrogenada e ésteres de cera, mesmo em concentrações baixas de ácidos, de 0,85 g/kg, mimetizaram melhores resultados (peso final de $14,6 \pm 1,0$ g) quando comparadas ao controle ($12,3 \pm 0,6$ g) após exposição por 63 dias à dieta acidificada, além de aumentarem os estoques lipídicos (células R) e estimular a secreção de enzimas digestivas como proteases, lipases e fosfatases (células F). Isso indica que a proteção física do ácido para liberação controlada tende a apresentar resultados positivos, com doses moderadas de ácidos e sem danos teciduais ou perigo de toxicidade às cobaias, em consonância com este estudo.

5.2 Método de incorporação, testes de imersão e acidificação do trato gastrointestinal

No tocante à incorporação do ácido, a técnica de pulverização líquida direta sobre a ração foi empregada para a adição dos ácidos fórmico e lignossulfônico, método que se mostrou eficaz e satisfatório em promover a acidificação do alimento, conforme evidenciado pela redução significativa do pH da ração e doproventrículo dos camarões após 15 minutos da ingestão. Conforme apresentado nos resultados, os valores médios de pH da ração foram de $4,05 \pm 0,19$ (5 g/kg) e $3,58 \pm 0,16$ (15 g/kg), enquanto o controle permaneceu em $6,30 \pm 0,49$, um resultado estatístico que comprova a acidificação.

A técnica de pulverização, portanto, não resultou em uma maior acidificação das porções posteriores do intestino dos camarões estudados, o que pode gerar questionamentos

sobre o aproveitamento dos compostos nos segmentos mais distais do trato digestivo. Nesse sentido reitera-se o que pode ser evidenciado em estudos já comentados, de que não há necessidade de uma acidificação total ou exagerada da alimentação, ao passo que os ácidos orgânicos e seus metabólitos podem ser aproveitados por bactérias do microbioma íntimo dos animais e melhoria na absorção de minerais (CHOWDHURY *et al.*, 2021; DEFOIRDT *et al.*, 2006).

A manutenção desse efeito após a imersão dos *pellets* sugere que a aplicação foi eficiente, minimizando a lixiviação, o que foi confirmado pelos testes de imersão em água, nos quais os *pellets* preservaram sua integridade por até 30 minutos de imersão, tempo compatível com o comportamento alimentar do *P. vannamei* em fundo de viveiro, aos moldes usuais da carcinicultura comercial. Silva *et al.* (2013) realizaram experimento de imersão semelhante com sais de ácidos orgânicos incorporados à ração peletizada, tendo verificado que a lixiviação do formiato (base conjugada do ácido fórmico) ocorreu apenas após 45 minutos de exposição à água, corroborando com os resultados encontrados.

Os testes contribuíram ainda para avaliar o tempo de exposição dos animais à ração acidificada, ou seja, entender se os animais conseguem consumir a ração antes que ocorra a neutralização completa do pH. Observou-se que o aumento gradual do pH da ração em meio aquoso, em sequência, muito provavelmente decorre da interação entre a água de cultivo, de caráter alcalina (em média pH 8,30), e a lixiviação do acidificante dos *pellets* para a água, comportamento esperado e observado em experimentos relacionados de lixiviação e interação com o *pellet* após imersão (CHOWDHURY *et al.*, 2021).

Esses achados sugerem que os camarões podem se beneficiar das rações revestidas com o acidificante mesmo após 30 minutos de imersão em água, uma vez que o pH permanece favorável e levemente ácido mesmo após meia hora da oferta da ração nos tanques.

Esse fator é positivo, considerando o comportamento alimentar da espécie, que, precisa manipular o alimento com seus apêndices antes da ingestão. Em relação à capacidade de incorporação do ácido, os dados médios dos tratamentos PX5 e PX15 indicam que, após a maceração, as rações apóspresentaram redução ainda maior no pH, sugerindo que a técnica foi eficaz na incorporação do acidificante tanto na superfície quanto no interior dos *pellets* (Figura 9).

A acidificação dos *pellets*, nesse sentido, ocorre não apenas na superfície, mas também no núcleo, que é menos afetado pela imersão em água e pode liberar gradualmente o ácido, mantendo o pH reduzido por mais tempo. Isso explica o comportamento observado nos tratamentos PX5 e PX15 após 15 minutos de imersão. Mesmo com perdas na acidificação,

verificou-se um retardamento no ritmo de lixiviação dos *pellets* acidificados. Ambos os tratamentos apresentaram, aos 30 minutos, pH levemente ácido, inferior ao controle, indicando a eficácia do método de incorporação do acidificante por meio da pulverização. Colocando esse método barato como viável à outros mais laboriosos como o microencapsulamento e a extrusão, que necessitam de materiais mais caros e escala de produção industrial (CHOWDHURY *et al.*, 2021; MILAN *et al.*, 2021).

Em paralelo, a acidificação gástrica foi evidente e dose-dependente nos testes de imersão e acidificação do conteúdo gastrointestinal, com valores médios de pH decrescentes (mais ácidos em camarões alimentados com 15 g/kg e menos ácidos no controle negativo), sendo as diferenças estatisticamente significativas. Esses achados corroboram os de Chuchird, Rorkwiree e Rairat (2015), que reportaram redução significativa do pH gástrico em camarões alimentados com 3 a 6 g/kg de ácido fórmico, fator que foi importante para viabilizar a assimilação da forma não dissociada dos ácidos no trato digestivo, essencial para sua ação. Segundo Defoirdt *et al.* (2006), o pH ideal para máxima eficácia dos ácidos de cadeia curta varia entre 5,0 e 6,0. Assim, os resultados aqui obtidos indicam que as doses de 5 e 15 g/kg foram eficazes para acidificar o conteúdo gástrico, o que pode contribuir para a redução de patógenos sensíveis ao pH levemente ácido e para a potencial melhora da digestibilidade, com menor risco de toxicidade.

A ausência de acidificação observada na região do intestino, em complemento, pode estar associada ao tempo prolongado necessário para a excreção de resíduos metabólicos ou a algum mecanismo de controle homeostático desencadeado pelo hepatopâncreas durante seu processo de digestão intra e extracelular. Ademais, a evacuação completa do alimento no trato digestivo do camarão pode levar até 4 horas após a alimentação (Nunes e Parsons, 2000). Isso sugere que um período de observação mais longo poderia revelar efeitos tardios da acidificação ou interações adicionais com o ambiente intestinal.

5.3 Exame histológico

No exame histológico evidenciou a menor prevalência de achados relacionados à resposta inflamatória nos tratamentos em que se utilizou ração acidificada, aliando ausência de danos ao trato gastrointestinal dos camarões tratados com a solução. Estatisticamente, verificou-se também

No tocante à presença de *Vibrio* spp. em todos os indivíduos analisados, reitera-se que os ácidos orgânicos não possuem a capacidade de “curar” o animal e dezimar tal agente do

microbioma gastrointestinal. Contudo, busca-se um efeito imunomodulador, que promova o controle do agente e a melhoria do desempenho. Tal achado é coerente com outros estudos. Ramírez (2016), por exemplo, evidenciou melhor sobrevida em camarões infectados com vibriose expostos aos ácidos orgânicos em condições experimentais de desafio. Contudo, ao realizarem análises histológicas e contagem do patógeno, não verificaram diferenças significativas quanto à presença do agente entre os tratamentos.

No que concerne aos resultados encontrados durante o exame presuntivo, desde as lesões melânicas macro até a microspia, com as infiltrações hemocíticas em diferentes tecidos, verificou-se que tais achados, presentes em todos os tratamentos, apesar de não serem relevantes, corroboram o entendimento de que os animais apresentavam sintomas de infestação por *Vibrio* spp. em suas diferentes formas: cuticular, gastrointestinal e sistêmica, deixando claro que a quantificação ou o diagnóstico molecular apenas poderia trazer as confirmações. No entanto, assevera-se a ampla tendência de diminuição dos achados relativos à resposta inflamatória e infecção nos tratamentos em que os animais foram expostos à solução acidificante (LIZÁRRAGA *et al.*, 2019; GU; NI; WANG, 2024; NAVARRO; MEJÍAS, 2015).

No mesmo sentido, Romano *et al.* (2015) também analisaram a histologia de camarões *P. vannamei* expostos a dieta acidificada, conforme já comentado neste estudo, e, mesmo em doses altas, evidenciaram a mesma tendência, dose-dependente, em que quanto maiores as doses de ácidos associados (fórmico, láctico, málico e cítrico) menores os achados deletérios, como infiltrações hemocíticas.

Acerca de eventuais danos ao epitélio gastrointestinal relacionados ao uso prolongado dos ácidos orgânicos, estes não foram encontrados nos indivíduos analisados nas doses de 5 e 15 g/kg. Pelo contrário, além de não revelarem danos, o uso dos ácidos evidenciou benefício relacionado à integridade e distribuição celular anatômica de hepatócitos no hepatopâncreas. Yao *et al.* (2019), em pesquisas realizadas com juvenis com peso médio de $2,12 \pm 0,10$ g, se utilizando uma mistura de ácidos (Ca-Propionato, Ca-Formiato e Na-Aacetato) (0,825 g/kg), suplementada com doses de protease (0,175 g/kg) e carboidratase (0,1 g/kg), diferentemente da análise histológica realizada neste estudo, verificaram, a partir de medições em micrômetros, que dietas suplementadas com doses moderadas de ácido, além de não causarem danos ao tecido, resultariam em vilosidades superiores às das dietas controle (com 20% de proteína bruta) ($75,57 \mu\text{m}$ na dieta suplementada contra $57,50 \mu\text{m}$ no controle), evidenciando efeitos positivos para além da manutenção da integridade, efeito que não foi evidenciado na análise histológica deste estudo, mas que corrobora os resultados positivos.

O efeito de proteção aos tecidos do hepatopâncreas já foi relatado por outros autores, o

que fortalece os achados deste estudo. Romano *et al.*, (2015) encontraram resultados similares no exame histológico realizado em seu estudo, utilizando de um “blend” de ácidos fórmico, láctico, málico e cítrico. Os autores concluíram que a utilização dos ácidos na alimentação teve papel na redução de danos histológicos (necrose, infiltração de hemócitos) e maior prevalência de células R (armazenamento lipídico) no hepatopâncreas. Na mesma tendência, apesar das limitações metodológicas, este estudo conseguiu verificar que as alterações patogênicas nos hepatócitos, como a proliferação de células epiteliais (células B), encontradas nos tratamentos controle, são sinais de adoecimento nos túbulos e podem ser relacionadas a problemas de desempenho.

Navarro e Mejías (2015), por sua vez, em estudos histológicos com camarões infectados por *Vibrio*, verificaram que cepas bacterianas capazes de mimetizar as toxinas PirA e PirB possuem tropismo pelo hepatopâncreas, instalando-se no tecido conjuntivo e hepatócitos dos túbulos, causando intensa resposta inflamatória e proliferação patogênica de células epiteliais, resultando em descamação, necrose e perda funcional da capacidade digestiva dos túbulos, interferindo no desempenho dos animais. Ahmed *et al.* (2012) também encontraram tais efeitos em camarões infectados com APHND, que apresentavam estágios de adoecimento iniciados por alta resposta inflamatória, marcada por infiltrações hemocíticas, seguidas por alterações nos hepatócitos, incluindo diminuição das células R (células funcionais) e substituição por células epiteliais degeneradas de células B, descamação, necrose, obstruções, perda funcional e atrofia de túbulos, dentre outros achados. Soto-Rodriguez *et al.* (2015) verificaram a perda funcional do órgão após infecção, com a diminuição da vacuolização de células B e R. Tais achados são condizentes com os encontrados no presente estudo histológico, com maior propensão dos animais alimentados com o controle negativo a apresentarem sintomas severos no hepatopâncreas.

Ademais, em consonância com Navarro e Mejías (2015), o hepatopâncreas saudável é anatomicamente composto por numerosos hepatócitos, que formam uma estrutura de lúmen estrelado ou teleado em seu centro. As células-tronco na extremidade distal dos túbulos diferenciam-se nos três principais tipos de células epiteliais, de forma anatômica e funcional. Conforme tais estudos análogos, é possível correlacionar a gravidade dos danos ao hepatopâncreas e formas mais severas de infestação por *Vibrio* spp.

No tocante aos achados desse estudo verifica-se que o uso dos acidificantes na alimentação dos camarões, nas doses estudadas, demonstrou nesse sentido, que não causa danos significativos ao epitélio gastrointestinal em toda sua extensão, ao passo que mimetiza efeitos

positivos estatísticos na redução da resposta inflamatória decorrente do *Vibrio* spp. nos animais, sendo necessários maiores estudos para expandir os achados iniciais encontrados neste trabalho.

6 CONCLUSÕES

Com base no exposto, verifica-se que os resultados demonstram que a inclusão de ácido fórmico e lignossulfônico na dieta de juvenis do *P. vannamei* traz benefícios claros em diferentes níveis para o desempenho zootécnico e saúde digestiva dos animais. A suplementação da ração com 5 g/kg do composto ácido otimizou a sobrevivência dos camarões, enquanto a dose de 15 g/kg maximizou o ganho de peso final. O método de pulverização demonstrou-se eficaz, mantendo a acidificação efeita da ração por até 30 minutos após a imersão em água, reduzindo o pH do proventrículo e hepatopâncreas dos animais, mantendo a faixa de pH levemente ácido criando um ambiente menos favorável à proliferação de bactérias patogênicas para os camarões. No tocante à histologia, ambas as concentrações (5 g/kg e 15 g/kg) apresentaram um efeito protetor sobre o hepatopâncreas, minimizando alterações histológicas deletérias sem causar efeitos deletérios ao trato digestivo dos camarões.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, D.; BOOPATHY, R. Use of formic acid to control vibriosis in shrimp aquaculture. **Biologia**, v. 68, n. 6, p. 1017-1021, 2013. Seção: Cellular and Molecular Biology. DOI: 10.2478/s11756-013-0251-x. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119315792>. Acesso em: 25 abr. 2025.
- AHMED, Jahangir; KHAN, Mohd Hashim; UNNIKRISHNAN, Sneha; RAMALINGAM, Karthikeyan. Acute Hepatopancreas Necrosis Disease (AHPND) as Challenging Threat in Shrimp. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 978-991, 2022. DOI: 10.33263/BRIAC121.978991. Disponível em: <https://biointerfaceresearch.com/wp-content/uploads/2021/04/20695837121.978991.pdf>. Acesso em: 7 jun. 2025.
- AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. A. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. **Marine Biology**, v. 101, n. 4, p. 519–527, 1989. ISSN 1432-1793. DOI: 10.1007/bf00541656. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/bf00541656>. Acesso em: 7 jun. 2025.
- ANDERSSON, M. P.; OLSSON, M. H. M.; STIPP, S. L. S. Predicting the pKa and stability of organic acids and bases at an oil–water interface. **Langmuir**, v. 30, n. 22, p. 6437-6445, 2014. DOI: 10.1021/la5008318. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la5008318>. Acesso em: 25 abr. 2025.
- ARO, T.; FATEHI, P. Production and Application of Lignosulfonates and Sulfonated Lignin. **ChemSusChem**, v. 10, p. 1861-1877, 2017. DOI: 10.1002/cssc.201700082. Disponível em: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cssc.201700082>. Acesso em: 6 maio 2024.
- BELL, T. A. e LIGHTNER, D. V. **Manual de histología del camarón penaeido normal**. World Aquaculture Society. Aquaculture Development Program, State of Hawaii, 114p, 1988.
- BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Produção agropecuária: camarão**. Rio de Janeiro: IBGE, 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/camarao/br>. Acesso em: 6 maio 2025.
- _____. Ministério da Agricultura e Pecuária. Instrução Normativa nº 4, de 4 de fevereiro de 2015. Dispõe sobre as boas práticas de manejo na carcinicultura. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 5 fev. 2015. Disponível em: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?chave=401297954>. Acesso em: 6 maio 2025.
- CANELLAS, A. L. B.; LOPES, I. R.; OLIVEIRA, B. F. R.; LAPORT, M. S. “O gênero Vibrio: conceitos atuais e novas perspectivas”. **Revista da Biologia**, v. 22, pp. 14–31, 2021. DOI: 10.11606/issn.1984-5154.v22p14-31. Disponível em: <https://revistas.usp.br/revbiologia/article/download/176137/194272/625165>. Acesso em: 6 ago. 2025.
- CASTRO, P. F. de. **Enzimas de organismos aquáticos e suas aplicações fisiológicas**. 2009.

175 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 31 jan. 2009. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/1581>. Acesso em: 11 jun. 2025.

CHAHARDOLI, A.; KARIMI, N.; FATTASHI, A.; BEHESHTI, Z. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Plantago major* leaf extract and evaluation of their antibacterial activity. In: **Green Synthesis of Metal Nanoparticles**. Elsevier, 2020. Disponível em: [\[https://sci-hub.se/downloads/2020-04-10/2e/chahardoli2020.pdf\]](https://sci-hub.se/downloads/2020-04-10/2e/chahardoli2020.pdf). Acesso em: 25 abr. 2025.

CHOWDHURY, M. A. K.; SONG, H.; LIU, Y.; BUNOD, J.-D.; DONG, X.-H. Effects of microencapsulated organic acid and their salts on growth performance, immunity, and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Sustainability**, Basel, v. 13, n. 14, art. 7791, 13 jul. 2021. DOI: 10.3390/su13147791. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/14/7791>. Acesso em: 9 jan. 2025.

CHUCHIRD, N.; RORKWIREE, P.; RAIRAT, T. Effect of dietary formic acid and astaxanthin on the survival and growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and their resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. **SpringerPlus**, v. 4, artigo 440, 2015. DOI: 10.1186/s40064-015-1210-5. Disponível em: <https://springerplus.springeropen.com/articles/10.1186/s40064-015-1210-5>. Acesso em: 6 maio 2024.

CUÉLLAR-ANJEL, J. (ed.). **Guía técnica: patología e inmunología de camarones penaeidos**. Panamá: OIRSA, 2014. 382 p.

DEFOIRDT, T.; HALET, D.; SORGELOOS, P.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Short-chain fatty acids protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. **Aquaculture**, [S. l.], v. 261, n. 2, p. 804-808, 24 nov. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848606004807>. Acesso em: 7 abr. 2025.

DIXON, S. L.; JURS, P. C. Estimation of pKa for organic oxyacids using calculated atomic charges. **Journal of Computational Chemistry**, v. 14, n. 12, p. 1460-1467, 1993. DOI: 10.1002/jcc.540141208. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.540141208>. Acesso em: 5 maio 2025.

FLEGEL, T. W. A future vision for disease control in shrimp aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 50, n. 2, p. 249–266, 2019. DOI: 10.1111/jwas.12545. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jwas.12545>. Acesso em: 7 jun. 2025.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Blue Transformation in Action**. Rome: FAO, 2024. 300 p. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/items/06690fd0-d133-424c-9673-1849e414543d>. Acesso em: 9 jan. 2025.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022: Towards Blue Transformation**. Rome: FAO, 2022. 266 p. Disponível em:

<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/9df19f53-b931-4d04-acd3-58a71c6b1a5b/content/cc0461en.html>. Acesso em: 9 jan. 2025.

GHAI, M.; AGNIHOTRI, N.; KUMAR, V.; AGNIHOTRI, R.; KUMAR, A.; SAHU, K. Global organic acids production and their industrial applications. **Physical Sciences Reviews**, v. 9, n. 10, 2023. DOI: 10.1515/psr-2022-0157. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/psr-2022-0157/html>. Acesso em: 6 maio 2024.

GHIA, M.; BARBOSA, A. C.; SANTOS, L.; OLIVEIRA, R.; FERREIRA, C. Global organic acids production and their industrial applications. **Polish Society of Microbiologists**, 2022. DOI: [10.1515/psr-2022-0157]. Disponível em: [\[https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/psr-2022-0157/html\]](https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/psr-2022-0157/html). Acesso em: 25 abr. 2025.

GU, Y.; NI, P.; WANG, M.-Q. Histopathological characterization of *Penaeus vannamei* experimentally infected with *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease. **International Scholarly Journal**, v. 21, p. 179–192, 2024. Disponível em: <https://www.isj.unimore.it/index.php/ISJ/article/view/858/522>. Acesso em: 25 abr. 2025.

HASSAAN, M. S.; WAFA, M. A.; SOLTAN, M. A.; GODA, A. S.; MOGHETH, N. M. A. Effect of dietary organic salts on growth, nutrient digestibility, mineral absorption and some biochemical indices of Nile tilapia; *Oreochromis niloticus* L. fingerlings. **World Applied Sciences Journal**, [S. l.], v. 29, n. 1, p. 47–55, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/273133654_Effect_of_Dietary_Organic_Salts_on_Growth_Nutrient_Digestibility_Mineral_Absorption_and_Some_Biochemical_Indices_of_Nile_Tilapia_Oreochromis_niloticus_L_Fingerlings. Acesso em: 7 jul. 2024.

HE, W.; RAHIMNEJAD, S.; WANG, L.; SONG, K.; LU, K.; ZHANG, C. Effects of organic acids and essential oils blend on growth, gut microbiota, immune response and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio parahaemolyticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 70, p. 164–173, 2017. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.09.013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1050464817305181>. Acesso em: 25 abr. 2025.

INTRIAGO, W. **Problemas de aislamiento y caracterización de bacterias asociadas al síndrome de zoea II y demostración experimental de su patogenicidad**. 1998. Tesis (Graduación) – Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, 1998. Disponível em: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/4081/1/T-60327%20INTRIAGO%20DIAZ.pdf>. Acesso em: 9 jun. 2025.

KASSAB, A. S.; AL-SOKARY, E. T.; ELBAZ, S. The role of formic acid as an antibacterial feed additive on growth parameters and health of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, Cairo, v. 29, n. 2, p. –, 2025. Disponível em: https://ejabf.journals.ekb.eg/article_416017_ff5ca914a7a37988f6af442c286b5b20.pdf. Acesso em: 9 jun. 2025.

KATYA, K.; PARK, G.; BHARADWAJ, A. S.; BROWDY, C. L.; VAZQUEZ-ANON, M.; BAI, S. C. Organic acids blend as dietary antibiotic replacer in marine fish olive flounder,

Paralichthys olivaceus. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 8, p. 2861-2868, 2018. DOI: 10.1111/are.13749. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley-com.ez292.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1111/are.13749>. Acesso em 29 março 2025.

KHORIS, E. A.; BELIH, S. S.; ATTEIA AHMED, M. A. Effect of Formic Acid and Biotin Supplementation on Growth Performance and Survival of the Carp Fish Challenged with *Vibrio parahaemolyticus* Infection. **Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries**, v. 28, n. 3, 2024. Disponível em: https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Agcd%3A4%3A9187940/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Agcd%3A177914990&crl=c&link_origin=scholar.google.com.br. Acesso em 29 março 2025.

LEHMANN, M.; SCHLEDER, D. D.; JATOBÁ, A.; PERAZZOLO, L. M.; VINATEA, L. Suscetibilidade do camarão-branco do Pacífico à infecção com *Vibrio alginolyticus* em diferentes saturações de oxigênio. **Agropecuária Catarinense**, [S. I.], v. 28, n. 2, p. 67-70, 2017. Disponível em: <https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/rac/article/view/163>. Acesso em: 22 jun. 2025.

LIGHTNER, D. V. Diseases of culture penaeid shrimp. In: MCVEY, J. P. (Ed.). CRC handbook of mariculture. **Crustacean Aquac.**, [S. I.], v. 1, n. 2p. 393-486, 1993.

LÜCKSTÄDT, C. The use of acidifiers in fish nutrition. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, [S. I.], v. 3 , n. 044, 2008. Disponível em: http://wfish.de/fulltext/CAB_review-paper_acidifiers-in-fish-nutrition.pdf. Acesso em: 6 maio 2024.

LÜCKSTÄDT, C.; WYLIE, L.; REMMER, R.; KOK, R. de; COSTA, H. R.; BREBELS, M.; FALANCA, S.; DAM, H. van; KINJET, M.; HORST, Y. van der; ORKOLA, S.; HEUSDEN, C. van. **Organic acids in animal nutrition. Brussels**. FEFANA: 2014. 51 p. ISBN 978-2-9601289-2-5. Disponível em: https://fefana.org/app/uploads/2022/05/2014_08_20-BOOKLET-OA.pdf. Acesso em: 7 jul. 2024.

LUISE, D.; MOTTA, V.; SALVARANI, C.; CHIAPPELLI, M.; FUSCO, L.; BERTOCCHI, M.; MAZZONI, M.; MAIORANO, G.; NANNI COSTA, L.; VAN MILGEN, J.; BOSI, P.; TREVISI, P. Long-term administration of formic acid to weaners: Influence on intestinal microbiota, immunity parameters and growth performance. **Animal Feed Science and Technology**, [S. I.], v. 232, p. 160–168, out. 2017. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2017.08.012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377840117301669>. Acesso em: 10 jun. 2025.

MENDES, E. S.; MENDES, P. P.; GÓES, L. M. N. B.; BEZERRA, S. S.; VIEIRA, K. P. B. A. Os víbrios na carcinicultura. **Revista Panorama da Aquicultura**, [S. I.], n. 91, seção Sanidade, 31 out. 2005. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/os-vibrios-na-carcinicultura/>. Acesso em: 10 jun. 2025.

MILAN, A. K. C.; SONG, H.; LIU, Y.; BUNOD, J.-D.; DONG, X.-H. Effects of microencapsulated organic acid and their salts on growth performance, immunity, and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Sustainability**, v. 13, n. 14, art. 7791, jul. 2021. DOI: 10.3390/su13147791. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/14/7791>. Acesso em: 9 jun. 2025.

MURATORI, M. C. S. M.; VELOSO, A. P. B.; COSTA, A. P. R.; PEREIRA, M. M. G.; GUIMARAES, C. M. M.; CALVET, R. M.; SANTOS, Y. F. de M.; CARDOSO FILHO, F. das C. *Vibrio parahaemolyticus* em carcinicultura marinha. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 15, n. 2, p. 289–296, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/disclaimer/>. Acesso em: 9 jun. 2025.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A. **Microbiologia médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015

NAIR, S. Global Organic Acids Market: Size, Forecast and Trend Highlights (2024-2037). **Research Nester**, [S. l.], 2024. Disponível em: https://www.researchnester.com/reports/organic-acid-market/81?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 9 jun. 2025.

NASCIMENTO, T.; FERRAZ, A. C. O.; BIAGI, J. D. Efeito do lignossulfonato de cálcio e magnésio na resistência mecânica e consumo de energia na fabricação de alimento extrusado para cães. **Engenharia Agrícola**, v. 34, n. 3, p. 530-541, 2014. DOI: 10.1590/S0100-69162014000300016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eagri/a/8Xq6YqQj5QZ5j5XQ5j5XQ5j/?lang=pt>. Acesso em: 6 maio 2025.

NAVARRO, N.; MEJÍAS, A. V. Análise histopatológico em *Litopenaeus vannamei* infectado com *Vibrio parahaemolyticus*. **Agronomía Mesoamericana**, San José, v. 26, n. 1, p. 45-54, jan./abr. 2015. DOI: 10.15517/am.v26i1.16892. Disponível em: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v26n1/a05v26n1.pdf>. Acesso em: 6 maio 2025.

NG, W. K.; KOH, C. B. Application of organic acids in aquafeeds: impacts on fish growth, nutrient utilisation and disease resistance. In: LÜCKSTÄDT, C. (Ed.). **Standards of acidifiers**. Nottingham: Nottingham University Press, 2014. p. 49-54. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848614004864>. Acesso em: 25 abr. 2025.

NGOC TUAN, T.; DOAN, H. V.; MUNGMAI, N.; KHANG, D. T.; ANDRADE, H.; KHANITCHALEE, L. Progress and perspectives of short-chain fatty acids in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, p. 283-298, 2020. DOI: 10.1111/raq.12317. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/raq.12317>. Acesso em: 25 abr. 2025.

NUNES, A. J. P.; PARSONS, G. Jay. Size-related feeding and gastric evacuation measurements for the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis*. **Aquaculture**, v. 187, n. 1-2, p. 133-151, 5 jul. 2000. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848699003865>>. Acesso em: 15 jul. 2025.

PAVLOVIĆ, M.; MARKOVIĆ, R.; RADULOVIĆ, S.; TEODOROVIĆ, V.; NIKOLIĆ, A.; JAKIĆ-DIMIĆ, D.; ŠEFER, D. The use of organic acids in animal nutrition. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF VETERINARY MEDICINE**, ed. 2, 2016, Belgrade. Proceedings... Belgrade: Scientific Institute of Veterinary Medicine of Serbia, 2016. p. 19-24. Disponível em:

https://reponivs.nivs.rs/bitstream/handle/123456789/680/ISVM2016_19.pdf. Acesso em: 5 maio 2024.

PERRIN, D. D.; DEMPSEY, B.; SERJEANT, E. P. **pKa prediction for organic acids and bases**. London: Chapman & Hall, 1981. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-94-009-5883-8>. Acesso em: 5 abr. 2025.

PICOLO, J. M. **Estrutura funcional do hepatopâncreas no processo digestivo em *Macrobrachium amazonicum***. 2013. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, 2013. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/e2c95f7f-1d71-4335-89b7-6a0060a7e601/content>. Acesso em: 7 jun. 2025.

PICOLO, J. M. **Plasticidade morfológica do hepatopâncreas de juvenis de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) submetidos a diferentes regimes alimentares**. 2017. 120 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, SP, 2017. Disponível em: https://www.caunesp.unesp.br/Home/pos-graduacao/tese_janaina-muniz-picolo.pdf. Acesso em: 7 jan. 2025.

POLYCARPO, G. V.; ANDRETTA, I.; KIPPER, M.; CRUZ-POLYCARPO, V. C.; DADALT, J. C.; RODRIGUES, P. H. M.; ALBUQUERQUE, R. Meta-analytic study of organic acids as an alternative performance-enhancing feed additive to antibiotics for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 96, n. 10, p. 3645-3653, 2017. DOI: 10.3382/ps/pex178. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119315792>. Acesso em: 29 mar. 2025.

RAMÍREZ, N. C. **Avaliação do uso de sais orgânicos em conjunto com probióticos no desempenho do camarão marinho *Litopenaeus vannamei***. 2016. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/168017>. Acesso em: 29 mar. 2025.

REIS, A. P. A. W.; GODOY, A. C.; SILVA, C. A. H.; SCARDUA, M. P.; FERREIRA, D. D.; OLIVEIRA, D. F. R.; ZANELLA, J.; NEU, D. H. Aditivos na dieta de peixes com capacidade de modular o sistema digestivo: prebióticos, probióticos e ácidos orgânicos - uma revisão. **Observatorio de la Economía Latinoamericana**, v. 22, n. 5, p. e4927, 2024. Disponível em: <https://ojs.observatoriolatinoamericano.com/ojs/index.php/olel/article/view/4927>. Acesso em: 5 maio 2024.

RICKE, S. C.; DITTOE, D. K.; RICHARDSON, K. E. Formic acid as an antimicrobial for poultry production: A review. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 563, 2020. DOI: 10.3389/fvets.2020.00563. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2020.00563/full>. Acesso em: 12 de jan de 2025.

RIMOLDI, S.; GLIOZHENI, E.; ASCIONE, C.; GINI, E.; TEROVA, G. Effect of a specific composition of short- and medium-chain fatty acid 1-Monoglycerides on growth performances and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **PeerJ**, v. 6, art. e5355, jul. 2018. DOI: 10.7717/peerj.5355. Disponível em: <https://peerj.com/articles/5355/>. Acesso em: 9 jun. 2025.

ROMANO, N.; KOH, C. B.; NG, W. K. Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 435, p. 228–236, 1 jan. 2015. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.09.037. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848614004864>. Acesso em: 7 jun. 2025.

ROSA, J. V.; KÄEFER, K.; CONCEIÇÃO, N. V. da; CONCEIÇÃO, R. C. S. da; TIMM, C. D. Formação de biofilme por *Vibrio parahaemolyticus* isolados de pescados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 339–345, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000400007>. Acesso em: 27 maio 2025.

ROSA, J. V.; KÄEFER, K.; CONCEIÇÃO, N. V.; CONCEIÇÃO, R. C. S. da; TIMM, C. D. Formação de biofilme por *Vibrio parahaemolyticus* isolados de pescados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 339-345, 2017. DOI: 10.1590/S0100-736X2017000400007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/8Xq6YqQj5QZ5j5XQ5j5XQ5j/?lang=pt>. Acesso em: 27 maio 2025.

SAUGET, M.; ATCHON, A. K.; VALOT, B.; GARCH, F. EL; JONG, A. DE; MOYAERT, H.; HOCQUET, D. Genome analysis of third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* species recovered from healthy and diseased food-producing animals in Europe. **PLOS ONE**, v. 18, n. 10, e0289829, 2023. DOI: 10.1371/journal.pone.0289829. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0289829>. Acesso em: 25 abr. 2025.

SHAO, J.; ZHAO, W.; LIU, X.; WANG, L. Growth performance, digestive enzymes, and TOR signaling pathway of *Litopenaeus vannamei* are not significantly affected by dietary protein hydrolysates in practical conditions. **Frontiers in Physiology**, v. 9, art. 998, 14 ago. 2018. DOI: 10.3389/fphys.2018.00998. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.00998/full>. Acesso em: 7 jun. 2025.

SILVA, B. C.; NOLASCO-SORIA, H.; MAGALLÓN-BARAJAS, F.; CIVERA-CEREcedo, R.; CASILLAS-HERNÁNDEZ, R.; SEIFFERT, W. Improved digestion and initial performance of whiteleg shrimp using organic salt supplements. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, p. 997-1005, 2016. DOI: 10.1111/anu.12315. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/anu.12315>. Acesso em: 7 abr. 2025.

SILVA, B. C.; VIEIRA, F. N.; MOURINHO, J. L. P.; FERREIRA, G. S.; SEIFFERT, W. Q. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. **Aquaculture**, v. 384-387, p. 104-110, 2013. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.12.020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848612006397>. Acesso em: 6 maio 2024.

SOTO-RODRÍGUEZ, S. A.; GÓMEZ-GIL, B.; LOZANO-OLVERA, R.; BETANCOURT-LOZANO, M.; MORALES-COVARRUBIAS, M. S. Field and Experimental Evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the Causative Agent of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease of Cultured Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 5, p. 1689–1699, 2015.

- TACON, A. G. J.; METIAN, M. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, v. 23, n. 1, p. 1–10, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/272093753_Feed_Matters_Satisfying_the_Feed_Demand_of_Aquaculture. Acesso em: 5 abr. 2025.
- TRAN, N. T.; LI, Z.; WANG, S.; ZHENG, H.; AWEYA, J. J.; WEN, X.; LI, S. Progress and perspectives of short-chain fatty acids in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, v. 12, p. 283–298, 2013. DOI: 10.1111/raq.12317. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/raq.12317>. Acesso em: 6 maio 2024.
- VALENZUELA-COBOS, J.; VARGAS, C.; GARCÉS, F.; GRIJALVA, A.; MARCILLO, R. Biocontrol of the vibriosis in the white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using organic acids in the feeding. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, Cairo, v. 24, n. 5, p. 279–287, 2020. Disponível em: https://ejabf.journals.ekb.eg/article_104727_67ab1e831d49a15e975722488c898cfb.pdf. Acesso em: 2 jun. 2025.
- VARGAS, L. **Efeitos da utilização de MOS e ácidos orgânicos no desempenho de leitões**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2014. Disponível em: https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/11357/1/DV_COZOO_2013_2_11.pdf. Acesso em: 6 maio 2024.
- VARGAS, V. H. **Uso de acidificantes na alimentação animal**: princípios e aplicações. 2013. Monografia (Graduação em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2013. Disponível em: https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/11357/1/DV_COZOO_2013_2_11.pdf. Acesso em: 25 abr. 2025.
- LIZÁRRAGA, A. E.; JUÁREZ-MORALES, J. L.; RACOTTA, I. S.; VILLARREAL-COLMENARES, H.; VALDES-LOPEZ, O.; GONZÁLEZ, L. Transcriptomic analysis of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) in response to acute hepatopancreatic necrosis disease caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *PLoS ONE*, [S. l.], v. 14, n. 8, e0220993, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220993>. Acesso em: 25 abr. 2025.
- YAO, W.; LI, X.; CHOWDHURY, M. A. K.; WANG, J.; LENG, X. Dietary protease, carbohydrase and micro-encapsulated organic acid salts individually or in combination improved growth, feed utilization and intestinal histology of Pacific white shrimp. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 562, p. 88–95, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848623001502>. Acesso em: 04 jul. 2025.
- YOWAPHUI, N.; RAIRAT, T.; CHUCHIRD, N. Effect of formic acid, β -carotene and vitamin E on growth, survival and prevention to *Vibrio parahaemolyticus* in rearing of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Kasetsart University Fisheries Research Bulletin*, Bangkok, v. 40, n. 1, p. 1–10, 2016. Disponível em: <https://fish.ku.ac.th/pdf/Bul40/Bulletin-2016-Volume-40-1.pdf>. Acesso em: 6 maio 2025.
- ZHANG, D. Effects of dietary supplementation with exogenous probiotics on growth,

immunity, and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 7, p. 2198–2209, 2019. DOI: 10.1111/are.13749. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/are.13749>. Acesso em: 12 de jan de 2025.

ZHANG, X.; SUN, J.; HAN, Z.; CHEN, F.; LV, A.; HU, X.; SUN, X.; QI, H.; GUO, Y. *Vibrio parahaemolyticus* alters the community composition and function of intestinal microbiota in Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 544, 737061, 2021. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.737061. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848621003776>. Acesso em: 25 abr. 2025.

ZHOU, R.; WENG, S.; HE, J. Bacterial Infection Disrupts the Intestinal Bacterial Community and Facilitates the Enrichment of Pathogenic Bacteria in the Intestines of *Penaeus vannamei*. **Microorganisms**, v. 13, n. 4, p. 864, 2025. DOI: 10.3390/microorganisms13040864. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/13/4/864>. Acesso em: 02 de jun de 2025.

APÊNDICE A



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	23 de Abril de 2024
Vírus Analisados	Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV) e Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV)
Método	Quantitativo qPCR / TaqMan
Material analisado	Camarão <i>Penaeus vannamei</i>

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

APÊNDICE B

Amostra	Alterações gastrointestinais					Principais achados		
	Estômago	Deformidade de túbulos	Desuniformidade de células	Intestino	Melanose	Presença de <i>Vibrio</i> ssp.	Infilações hemocíticas	Corpo de Inclusão
CTL.1				X	X	X	X	
CTL.2						X	X	
CTL.3						X	X	X
CTL.4				X		X	X	
CTL.5				X	X	X	X	
CTL.6						X		
CTL.7					X	X		
CTL.8						X		
CTL.9	X		X			X	X	
CTL.10	X				X	X		
CTL.11	X		X			X		X
CTL.12	X		X			X		
CTL.13						X		
CTL.14	X		X	X		X		
CTL.15						X		
PX5.1						X		
PX5.2						X		
PX5.3						X		
PX5.4						X		
PX5.5						X		
PX5.6						X		
PX5.7						X		
PX5.8	X		X			X	X	
PX5.9						X		
PX5.10					X	X		
PX5.11						X		
PX5.12					X	X		
PX5.13						X		
PX5.14						X		
PX5.15						X		X
PX15.1				X	X	X		
PX15.2						X		X
PX15.3					X	X		
PX15.4						X		
PX15.5					X	X		
PX15.6						X		
PX15.7						X		
PX15.8						X		
PX15.9						X		X
PX15.10						X		
PX15.11						X		X
PX15.12						X		
PX15.13						X		X
PX15.14						X		

PX15.15

X

X
