



Universidade Federal do Rio Grande – FURG

Instituto de Oceanografia



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

Uso do Probiótico KERAACQUA® no cultivo superintensivo do camarão-branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* em água clara na fase de berçário e engorda

Aline Bezerra, Alessandro Cardozo & Wilson Wasielesky Jr.

Rio Grande
Março de 2017



INTRODUÇÃO

A partir dos anos 80 até meados de 2012, a produção aquícola mundial aumentou a uma taxa média de 8,6% ao ano, passando de 32,4 milhões de toneladas em 2000 para 66,6 milhões de toneladas em 2012 (FAO 2014). Para atender a demanda por organismos aquáticos ocorreu a intensificação da produção, causando o surgimento de problemas ambientais e sanitários, provocados pelo desequilíbrio na inter-relação entre hospedeiro, ambiente e patógeno (Galli, 2004), culminando no aparecimento de enfermidade.

Para obter sucesso na produção de camarões marinhos, a qualidade da água deve ser mantida sempre em condições ideais, sendo assim, inúmeras variáveis são mensuradas e controladas. Tal manejo é de extrema importância para evitar aparecimento de doenças e sobrevivência dos animais cultivados (Villalón, 1991).

Devido à intensificação da atividade alguns fatores como aumento das densidades de estocagem, água utilizada para abastecimento e manejo alimentar estão relacionados com o aparecimento de enfermidades bacterianas (Herzberg, 1996). Na larvicultura de camarões peneídeos as enfermidades bacterianas são as principais causas de perdas massivas na produção. Tal patologia é causada por bactérias do gênero *Vibrio* e pode ser caracterizada como infecção local ou sistêmica, afetando todos os órgãos e tecidos (Roque, 2001), principalmente o hepatopâncreas (Esteve & Herrera 2000).

Uma alternativa para o controle das patologias para sucesso na produção é o uso de probióticos (Gram *et al.*, 1999). Probióticos são definidos como microrganismos vivos adicionados ao alimento que beneficiam o hospedeiro, melhorando seu equilíbrio intestinal (Fuller, 1989). Existem diferentes mecanismos de ação dos probióticos: exclusão competitiva de bactérias patogênicas, fonte de nutrientes, contribuição enzimática para a digestão, influência sobre a qualidade da água e melhora da resposta imune (Balcázar *et al.*, 2007). O uso dos probióticos gera o controle bacteriostático, melhores produtividades, com o aumento do ganho de peso, melhor conversão alimentar e aumento das sobrevivências (Planas & Cunha 1999).



Universidade Federal do Rio Grande – FURG

Instituto de Oceanografia



OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do uso do Probiótico KERAACQUA® no cultivo superintensivo do camarão-branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* em água clara na fase de berçário e engorda.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito do Probiótico KERAACQUA® sobre a qualidade da água no cultivo superintensivo do *L. vannamei* em ambas as fases de berçário e engorda.

Avaliar o efeito do Probiótico KERAACQUA® sobre o desempenho zootécnico do *L. vannamei* cultivado em água clara na fase de berçário e engorda.



MATERIAIS E MÉTODOS

Local do estudo

O experimento foi realizado na Estação Marinha de Aquicultura, do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande/RS (EMA/FURG).

Delineamento experimental

BERÇÁRIO

O experimento foi realizado em uma sala experimental com controle de temperatura e luminosidade. Os animais são provenientes da Aquatec® (Rio Grande do Norte) de onde chegaram em estágio de náuplio e passaram pela fase da larvicultura realizada em nosso laboratório. Foram estocadas pós-larvas com 0,012g ($\pm 0,001$) de peso médio, em uma densidade de estocagem de 2000 camarões m⁻². Foram utilizados doze tanques de 150 litros, sendo três tanques controle, sem probióticos (AC-CTL), três tanques com probiótico KERAACQUA® na ração (AC-PR), três tanques com probiótico na água (AC-PA), três tanques com probiótico na ração e na água (AC-PRA). Os tanques possuem área de fundo de 0,49 m², sendo assim, foram estocados 300 pós-larvas por tanque, totalizando 3600 animais. O experimento teve duração de 35 dias.

ENGORDA

O experimento foi realizado em uma sala experimental com controle de temperatura e luminosidade. Os animais são provenientes da Aquatec® (Rio Grande do Norte) de onde chegaram em estágio de náuplio e passaram pela fase da larvicultura realizada em nosso laboratório. Foram estocadas pós-larvas com 0,45g ($\pm 0,1$) de peso médio, em uma densidade de estocagem de 300 camarões m⁻². Foram utilizados doze tanques de 150 litros, sendo três tanques controle, sem probióticos (AC-CTL), três tanques com probiótico KERAACQUA® na ração (AC-PR), três tanques com probiótico na água (AC-PA), três tanques com probiótico na ração e na água (AC-PRA). Os tanques possuem área de fundo de 0,49 m², sendo assim, foram estocados 45 pós-larvas por tanque, totalizando 540 animais. O experimento teve duração de 63 dias.

O probiótico KERAACQUA® (Kera Nutrição Animal) é composto pelas seguintes bactérias e suas respectivas concentrações: *Bacillus subtilis* ($3,4 \times 10^9$ ufc g⁻¹), *Lactobacillus plantarum* ($1,2 \times 10^9$ ufc g⁻¹) e *Pediococcus acidilactici* ($1,2 \times 10^9$ ufc g⁻¹),



utilizando lactose (639g kg^{-1}) como veículo. Foram aplicadas as dosagens recomendadas pelo fabricante do KERAACQUA® na ração (2,0 kg de probiótico/tonelada de ração) e na água foram utilizadas doses semanais de 1g/tonelada de água. Os camarões foram alimentados duas vezes ao dia, utilizando ração comercial Active 40% PB (Guabi) na fase de berçário e para fase de engorda ração comercial Active 38% PB (Guabi), segundo recomendado por Jory *et al* (2001). Foram feitas renovações diárias de 50% do volume total (75L), simulando um sistema de cultivo em água clara.

Variáveis físicas e químicas da água

Parâmetros ambientais como temperatura, pH e oxigênio dissolvido foram monitorados duas vezes ao dia utilizando um aparelho multiparâmetro da marca YSI® modelo 556. A qualidade de água foi monitorada com base nos níveis da amônia total (N-AT) e nitrito (N-NO₂-) a cada dois dias. Nitrato (N-NO₃), ortofosfato (P-PO₄₋₃), alcalinidade, salinidade e sólidos suspensos totais (SST) a cada sete dias. As análises de amônia total seguiram metodologia descrita em UNESCO (1983), nitrito pela metodologia descrita em Bendschneider & Robinson (1952) e ortofosfato e nitrato por Aminot & Chaussepied (1983). A alcalinidade foi determinada seguindo a metodologia descrita em APHA (1998). A turbidez da água foi determinada por um turbidímetro da marca Hach® modelo 2100P. Baseando-se no método de Strickland & Parsons (1972) foram realizadas coletadas de água para análise de material em suspensão (partículas maiores que 45 μm), onde o peso dos sólidos suspensos totais foi determinado por gravimetria a partir da filtragem de alíquotas de até 20 mL de água do cultivo em filtros de fibra de vidro Whatman GF/F. Os filtros foram colocados para secar por aproximadamente 24 h, a 60 °C e, posteriormente, pesados em balança analítica (Sartorius MC1, analytic AC 210S) com precisão de 0,0001g para determinação do peso final (AOAC 2000). A composição da matéria particulada foi constatada através de sólidos suspensos totais (SST) ao longo do experimento.

Desempenho Zootécnico do Camarão

O crescimento dos camarões em todas as unidades experimentais foi acompanhado por meio de biometrias semanais, utilizando balança digital com precisão de 0,001g. O ganho de peso semanal (GPS) determinado pelo seguinte cálculo: GPS =



(GP / n° semanas de cultivo). A conversão alimentar aparente (C.A.A.) obtida pela seguinte fórmula: $C.A.A. = \text{alimento oferecido} / \text{incremento de biomassa}$. A sobrevivência calculada através de: $S\% = ((\text{biomassa final} / \text{peso médio individual final}) / \text{n° indivíduos estocados}) \times 100$. Os dados de sobrevivência foram transformados (arcoseno da raiz quadrada) antes de analisados estatisticamente. A produtividade foi obtida pelo seguinte cálculo: $\text{Prod} = (\text{biomassa final} / \text{volume do tanque})$.

Análise estatística

Os resultados obtidos em cada tratamento foram submetidos ao Teste t de Student para a detecção de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, sendo que para a realização desta análise as premissas de normalidade e homocedasticidade foram checadas utilizando os testes Kolmogorov-Sminov e Levene, respectivamente. Os valores de sobrevivência foram transformados (arcoseno da raiz quadrada) antes de analisados (Zar, 1996).



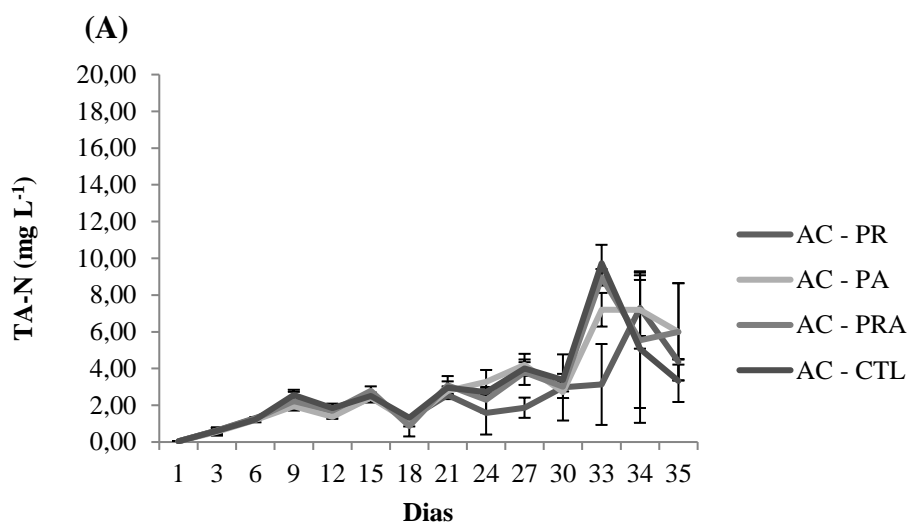
RESULTADOS BERÇÁRIO

Qualidade da água

Os parâmetros de qualidade de água como temperatura, oxigênio dissolvido, pH, salinidade não diferiram significativamente entre os tratamentos, mantendo-se entre os níveis recomendados para *L. vannamei*. O mesmo foi observado para os demais parâmetros como amônia, nitrito, nitrato, fosfato, alcalinidade, sólidos suspensos totais e turbidez (Tabela 1).

Tabela 1: Média (\pm desvio padrão) dos parâmetros físicos e químicos da água nos diferentes tratamentos durante os 35 dias do cultivo *L. vannamei* na fase de berçário.

Parâmetros Berçário	AC-PR	AC-PA	AC-PRA	AC-CTL
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	28,61 \pm 0,51	27,64 \pm 0,29	28,58 \pm 0,62	28,44 \pm 0,76
O ₂ D (mg L ⁻¹)	5,91 \pm 0,24	6,02 \pm 0,18	5,87 \pm 0,22	5,94 \pm 0,20
pH	8,20 \pm 0,03	8,24 \pm 0,03	8,23 \pm 0,04	8,28 \pm 0,03
Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	205,00 \pm 17,29	207,00 \pm 5,21	202,00 \pm 13,34	207,33 \pm 8,66
Amônia (TA - N mg L ⁻¹)	2,35 \pm 0,58	3,00 \pm 0,60	3,02 \pm 0,76	2,95 \pm 0,61
Nitrito (NO ₂ - N mg L ⁻¹)	2,52 \pm 0,86	2,06 \pm 0,32	2,65 \pm 0,56	1,86 \pm 0,54
Nitrato (NO ₃ - N mg L ⁻¹)	1,47 \pm 0,23	1,01 \pm 0,23	1,14 \pm 0,23	0,94 \pm 0,54
Fosfato (P-PO ₄ ⁻³ mg L ⁻¹)	0,07 \pm 0,02	0,08 \pm 0,04	0,10 \pm 0,01	0,07 \pm 0,02
Salinidade	30,67 \pm 0,29	30,50 \pm 0,19	30,83 \pm 0,29	31,06 \pm 0,53
SST (mg L ⁻¹)	114,92 \pm 27,90	80,33 \pm 22,44	89,78 \pm 33,62	80,75 \pm 27,30
Turbidez (NTU)	20,02 \pm 6,38	17,78 \pm 2,10	20,10 \pm 4,17	16,13 \pm 3,48



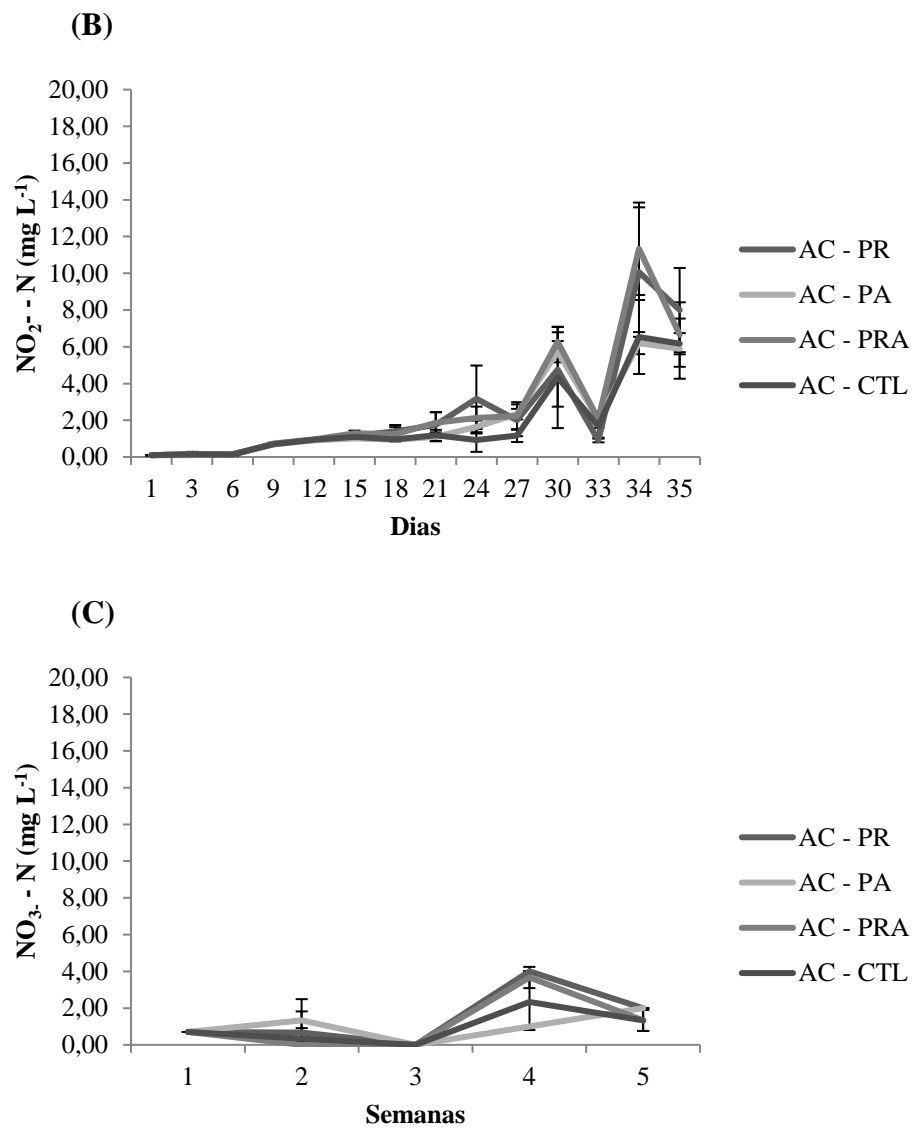


Figura 1: Concentrações médias de amônia (TA-N) (A), nitrito (N-NO₂) (B) e nitrato (N-NO₃) (C) no cultivo de *L. vannamei* nos diferentes tratamentos na fase de berçário durante os 35 dias de cultivo.

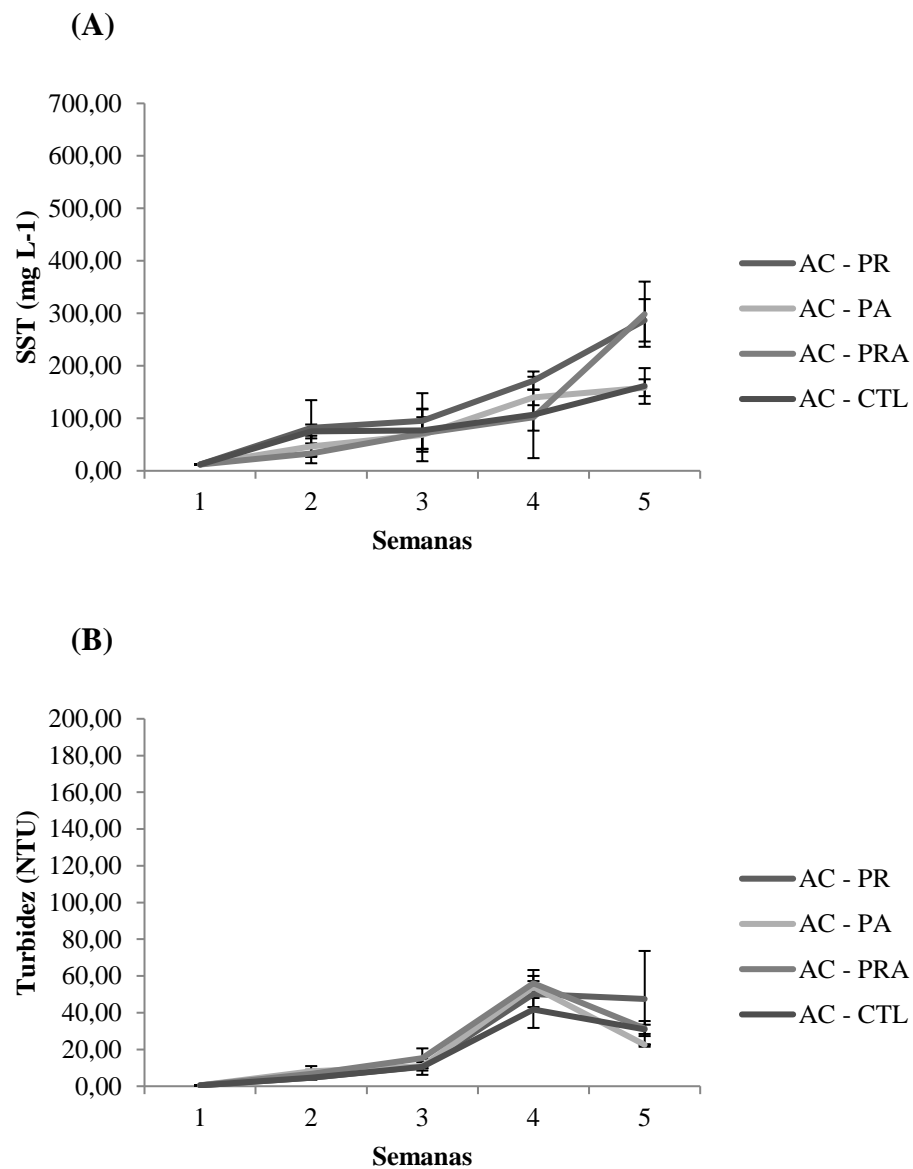


Figura 2: Concentrações médias de sólidos suspensos totais (mg L^{-1}) (A) e turbidez (NTU) (B) no cultivo de *L. vannamei* nos diferentes tratamentos na fase de berçário durante os 35 dias de cultivo.



Desempenho zootécnico

Os resultados obtidos de desempenho zootécnico são expressos na Tabela 2.

Tabela 2: Média (desvio padrão) dos parâmetros de desempenho zootécnico nos diferentes tratamentos durante os 35 dias de cultivo superintensivo de *L. vannamei* na fase de berçário em água clara.

Desempenho Zootécnico	AC-PR	AC-PA	AC-PRA	AC-CTL
Peso inicial (g)	0,012±0,001	0,012±0,001	0,012±0,001	0,012±0,001
Peso final (g)	1,13±0,10 ^a	0,84±0,15 ^b	1,07±0,20 ^a	0,74±0,20 ^b
Sobrevivência (%)	94,89±4,62 ^a	91,89±7,71 ^a	99,89±5,17 ^a	88,89±5,12 ^b
CAA	1,84±0,25 ^a	1,93±0,19 ^a	1,88±0,37 ^a	2,29±0,54 ^b
Biomassa final (kg)	0,32±0,05 ^a	0,23±0,06 ^b	0,32±0,08 ^a	0,20±0,04 ^b
Produtividade (kg m ²)	0,65±0,10 ^a	0,47±0,12 ^b	0,65±0,16 ^a	0,40±0,08 ^b

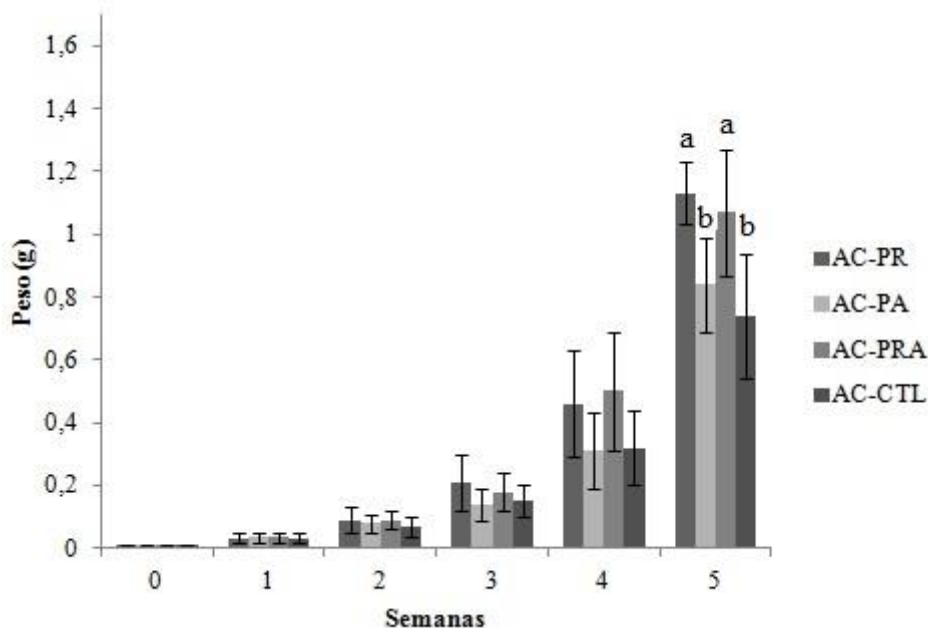


Figura 3: Peso médio (g) e desvio padrão ao longo do cultivo de *L. vannamei* durante os 35 dias de cultivo nos diferentes tratamentos na fase de berçário. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

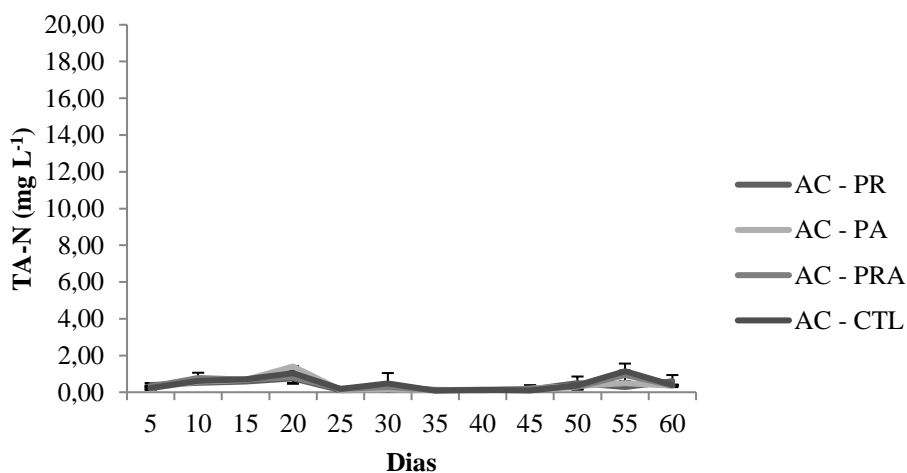
**RESULTADOS ENGORDA****Qualidade da água**

Os parâmetros de qualidade de água como temperatura, oxigênio dissolvido, pH, salinidade não diferiram significativamente entre os tratamentos, mantendo-se entre os níveis recomendados para *L. vannamei*. O mesmo foi observado para os demais parâmetros como amônia, nitrito, nitrato, fosfato, alcalinidade, sólidos suspensos totais e turbidez (Tabela 3).

Tabela 3: Média (\pm desvio padrão) dos parâmetros físicos e químicos da água nos diferentes tratamentos durante os 63 dias do cultivo *L. vannamei* na fase de engorda.

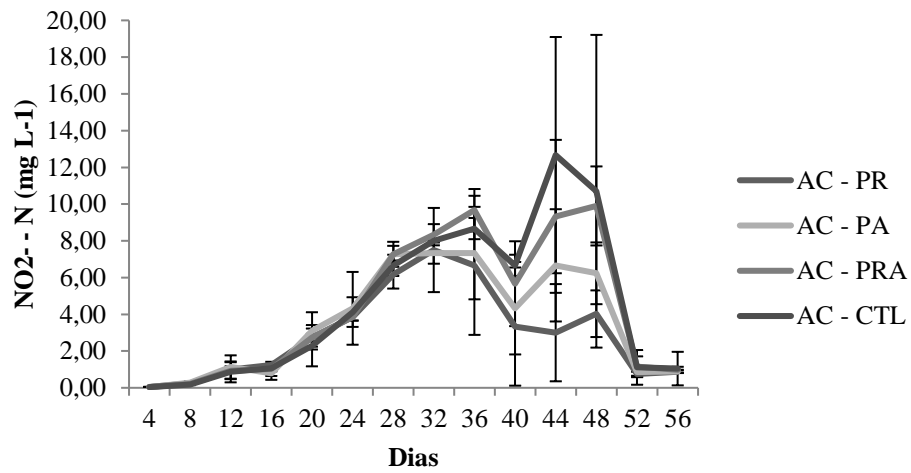
Parâmetros Engorda	AC-PR	AC-PA	AC-PRA	AC-CTL
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	28,93 \pm 0,67	28,81 \pm 0,88	28,69 \pm 0,52	28,59 \pm 0,65
O ₂ D (mg L ⁻¹)	6,03 \pm 0,16	6,01 \pm 0,15	5,97 \pm 0,12	5,96 \pm 0,12
pH	7,91 \pm 0,04	7,93 \pm 0,03	7,92 \pm 0,03	7,93 \pm 0,03
Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	130,56 \pm 7,58	133,89 \pm 13,96	130,93 \pm 9,00	133,52 \pm 6,36
Amônia (TA - N mg L ⁻¹)	0,36 \pm 0,13	0,40 \pm 0,06	0,42 \pm 0,17	0,46 \pm 0,11
Nitrito (NO ₂ - N mg L ⁻¹)	2,96 \pm 1,06	3,61 \pm 1,10	4,36 \pm 0,94	4,58 \pm 1,52
Nitrato (NO ₃ - N mg L ⁻¹)	5,81 \pm 0,78	5,15 \pm 1,79	5,37 \pm 1,00	4,74 \pm 0,71
Fosfato (P-PO ₄ ⁻³ mg L ⁻¹)	0,44 \pm 0,12	0,41 \pm 0,12	0,40 \pm 0,10	0,41 \pm 0,11
Salinidade	31,93 \pm 1,17	31,74 \pm 1,02	32,56 \pm 1,28	32,56 \pm 1,19
SST (mg L ⁻¹)	109,00 \pm 19,22	94,96 \pm 25,16	100,41 \pm 28,60	89,07 \pm 23,08
Turbidez (NTU)	73,57 \pm 18,50	62,94 \pm 14,02	62,40 \pm 21,69	46,67 \pm 11,41

(A)





(B)



(C)

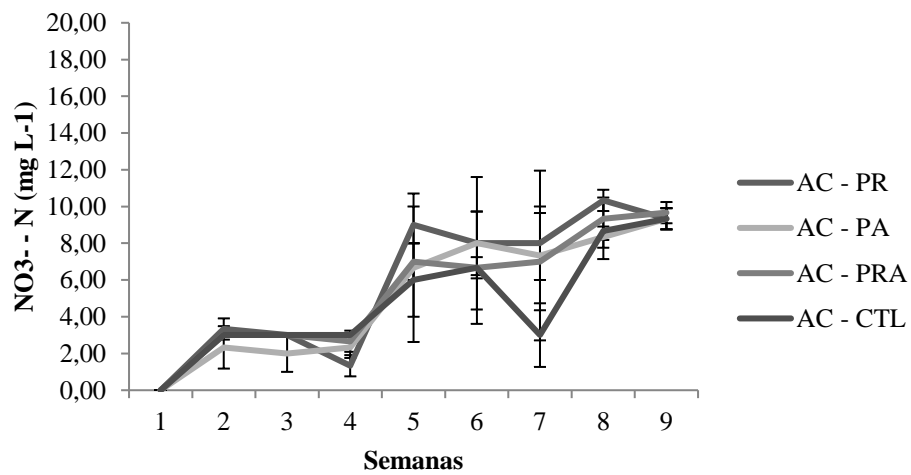
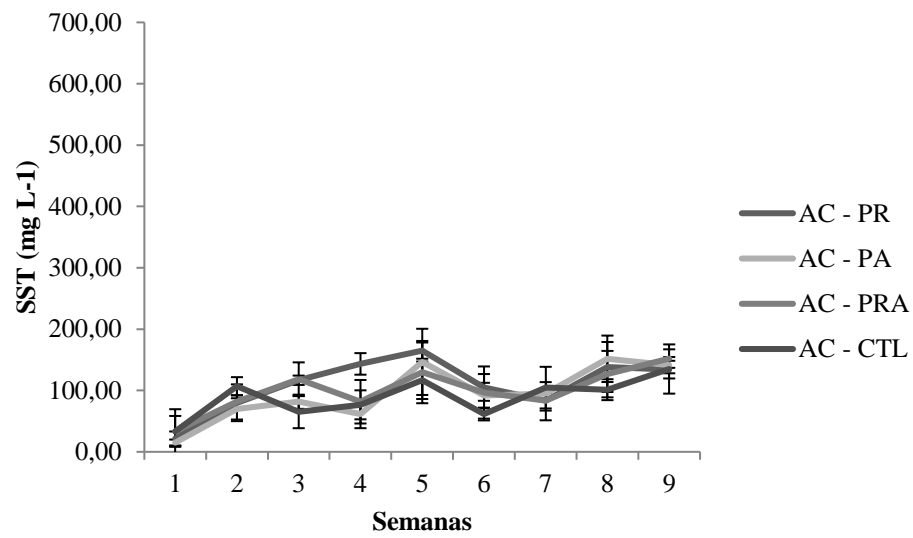


Figura 4: Concentrações médias de amônia (TA-N) (A), nitrito (N-NO₂-) (B) e nitrato (N-NO₃-) (C) no cultivo de *L. vannamei* nos diferentes tratamentos na fase de engorda durante os 63 dias de cultivo.



(A)



(B)

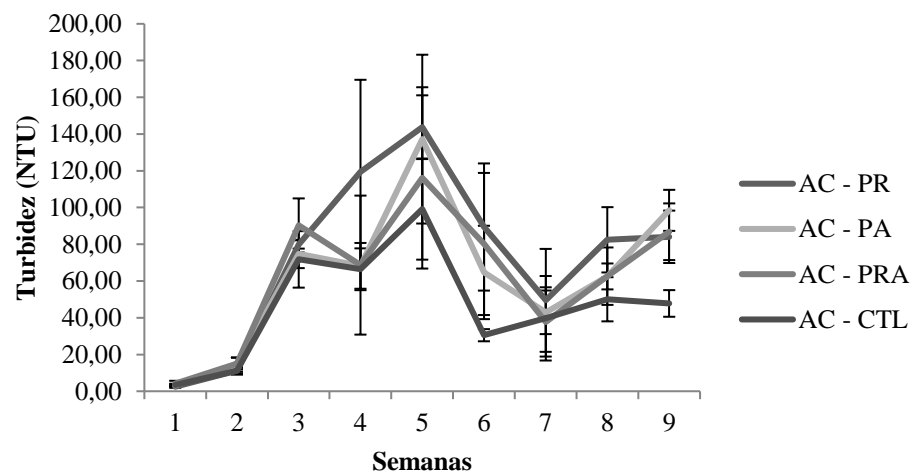


Figura 5: Concentrações médias de sólidos suspensos totais (mg L^{-1}) (A) e turbidez (NTU) (B) no cultivo de *L. vannamei* nos diferentes tratamentos na fase de engorda durante os 63 dias de cultivo.



Desempenho zootécnico

Os resultados obtidos de desempenho zootécnico são expressos na Tabela 2.

Tabela 4: Média (desvio padrão) dos parâmetros de desempenho zootécnico nos diferentes tratamentos durante os 35 dias de cultivo superintensivo de *L. vannamei* na fase de berçário em água clara.

Desempenho Zootécnico	AC-PR	AC-PA	AC-PRA	AC-CTL
Peso inicial (g)	0,45±0,10	0,45±0,10	0,45±0,10	0,45±0,10
Peso final (g)	8,15±0,90 ^a	8,29±0,89 ^a	8,44±0,88 ^a	6,54±0,90 ^b
Sobrevivência (%)	100,00±0,01	100,00±0,02	99,29±0,02	100,00±0,02
CAA	1,47±0,11 ^a	1,43±0,12 ^a	1,46±0,20 ^a	1,76±0,03 ^b
GPS	2,01±0,23 ^a	2,05±0,22 ^a	2,08±0,28 ^a	1,61±0,17 ^b
Biomassa final (kg)	0,37±0,04 ^a	0,37±0,04 ^a	0,38±0,05 ^a	0,29±0,03 ^b
Produtividade (kg m ²)	0,75±0,09 ^a	0,76±0,08 ^a	0,77±0,10 ^a	0,60±0,06 ^b

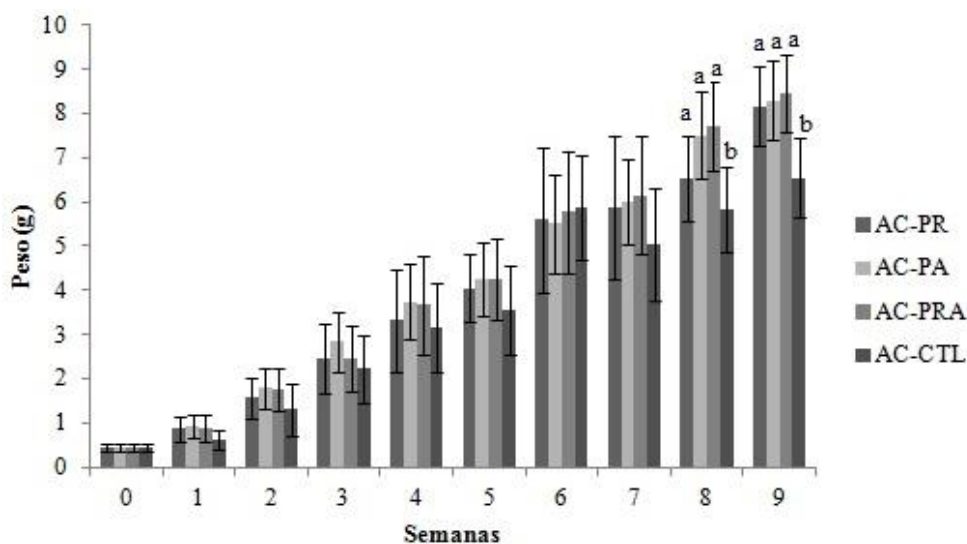


Figura 3: Peso médio (g) e desvio padrão ao longo do cultivo de *L. vannamei* durante os 63 dias de cultivo nos diferentes tratamentos na fase de engorda. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).



DISCUSSÃO

Os parâmetros físicos como temperatura, oxigênio dissolvido, pH e salinidade não diferiram entre os tratamentos, assim como os parâmetros químicos da água mantiveram-se dentro dos valores aceitáveis para *L. vannamei* (Van Wyk & Scarpa 1999). Incluindo as concentrações dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato) se mantiveram em níveis ótimos para o cultivo de *L. vannamei* (Lin & Chen 2001; Lin & Chen 2003; Kuhn *et al.* 2010).

Entretanto, nas condições aplicadas ao presente estudo podemos sugerir que as renovações de água realizadas ao longo do experimento foram satisfatórias para a manutenção da qualidade da água. Portanto, observamos um leve acúmulo de matéria orgânica no tratamento controle quando comparado ao tratamento com probiótico. Considerando uma produção em sistema convencional pode ser um diferencial para redução de matéria orgânica no fundo de viveiros.

Visualmente foi verificada nas paredes dos tanques uma redução das incrustações de poliquetas, que constroem tubos calcários nos tanques com adição do probiótico KERAACQUA® (Kera Nutrição Animal). Tal efeito observado pode sugerir a exclusão competitiva das bactérias no cultivo, entretanto não foram realizadas análises para detectar possíveis efeitos da adição do probiótico KERAACQUA® (Kera Nutrição Animal) e seu efeito sobre estes organismos incrustantes.

Com relação ao desempenho zootécnico foi verificado um maior peso médio final e melhores taxas de sobrevivência no tratamento que utilizou o probiótico KERAACQUA® (Kera Nutrição Animal) quando comparado ao tratamento controle. Também foi verificada uma melhora na conversão alimentar aparente, podendo esta melhora ser relativa a utilização do probiótico KERAACQUA® (Kera Nutrição Animal) na ração oferecida aos animais. Balcazar *et al.*(2007) verificaram melhor crescimento e sobrevivência de *L. vannamei* utilizando *B. subtilis* como probiótico para enfrentar infecções por *Vibrio parahaemolyticus*. Krummenauer *et al.* (2013) obtiveram resultados semelhantes com a adição de probiótico composto por *Bacillus spp* em meio heterotrófico.



Universidade Federal do Rio Grande – FURG

Instituto de Oceanografia



Alguns autores concluem que os microrganismos probióticos estão presentes no processo de digestão dos camarões, atuando na produção de enzimas na digestão, substâncias antimicrobianas, alterações de pH devido a produção de ácidos orgânicos, gerando índices zootécnicos elevados, como peso final, biomassa e sobrevivência (Verschuere *et al.*, 2000; Chiu *et al.*, 2007).



Universidade Federal do Rio Grande – FURG

Instituto de Oceanografia



CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo indicam que a utilização do probiótico KERAACQUA® (Kera Nutrição Animal) na água e na ração durante o cultivo superintensivo do camarão *L. vannamei* em água clara contribuiu para melhor desempenho zootécnico em todos os parâmetros de crescimento e sobrevivência. Evidenciando sua eficácia como probiótico de alto desempenho.

Esperamos ter respondido o pedido, ficamos a disposição para quaisquer outras informações.

Atenciosamente,

Prof. Wilson Wasielesky Jr

Coordenador do Projeto Camarão